

©Derwent Information

# Protecting human skin against aging, using topical cosmetic or dermatological composition containing *Saccharomyces cerevisiae* extract to stimulates dermal macromolecule synthesis

**Patent Number : WO200203943**

*International patents classification : A61K-007/00; A61K-007/48; ; A61K-008/96; A61K-008/02; A61K-008/06; A61K-008/30; A61K-008/34; A61K-008/36; A61K-008/365; A61K-008/72; A61K-008/73; A61K-008/99; A61Q-019/08; A61K-008/04*

## • Abstract :

WO200203943 A NOVELTY: A method for protecting human skin against aging involves topical application of a composition containing a *Saccharomyces cerevisiae* extract which stimulates the synthesis of dermal macromolecules.

DESCRIPTION: An INDEPENDENT CLAIM is included for the use of a *Saccharomyces cerevisiae* extract for stimulating the synthesis of dermal macromolecules.

ACTIVITY: Dermatological.

MECHANISM OF ACTION: Dermal macromolecule synthesis stimulant. Human fibroblasts were mixed with type I collagen solution (1-2 mg/ml) and incubated in DMEM nutrient medium containing 2 wt. % fetal calf serum and various additives at 37 degreesC under 5% carbon dioxide atmosphere for 7 days. In presence of 0.02% Cytovitin (RTM; mixture of 1-5% *Saccharomyces cerevisiae*, more than 50% mannitol, 5-10% cyclodextrin and 0.1-1% disodium succinate), the fibroblast synthesis factors (proportional to concentrations) were 167 for elastin, 8431 for type III collagen and 4646 for chondroitin sulfate, compared with 23 for elastin, 1914 for type III collagen and 3018 for chondroitin sulfate in the absence of Cytovitin (RTM).

USE: (I) is useful in cosmetic or dermatological care compositions for counteracting aging of the skin, by stimulating the synthesis of macromolecules (specifically glycosaminoglycans (especially chondroitin sulfate, keratan sulfate, dermatan sulfate and hyaluronic acid), elastin, collagen (especially type III collagen), fibronectin and proteoglycans and their salts; all claimed) which counteract the age-induced loss of dermal strength and elasticity leading to wrinkles and loose skin.

ADVANTAGE: (I) is a natural product which is well tolerated by the skin, has good stability (especially against oxidative decomposition), is free of side-effects single agent and can simultaneously stimulate the production of a range of beneficial components. *Saccharomyces cerevisiae* is a readily available, inexpensive, renewable source material.

## • Publication data :

Patent Family : WO200203943 A1 20020117 DW2002-21  
A61K-007/48 Ger 34p \* AP: 2001WO-EP07429 20010629  
AU200179701 A 20020121 DW2002-34 Eng FD: Based on  
WO200203943 A AP: 2001AU-0079701 20010629  
EP1343468 A1 20030917 DW2003-62 A61K-007/48 Ger FD:  
Based on WO200203943 A AP: 2001EP-0957903 20010629,  
2001WO-EP07429 20010629

**US20040028697** A1 20040212 DW2004-12 A61K-  
035/72 Eng AP: 2001WO-EP07429 20010629, 2003US-0332283  
20030819

JP2004502712 W 20040129 DW2004-13 A61K-007/00 Jpn 60p  
FD: Based on WO200203943 A AP: 2001WO-EP07429 20010629,  
2002JP-0508398 20010629

Designated states : WO200203943 National States: AU BR CN ID  
IN JP KR US Regional States: AT BE CH CY DE DK ES FI FR  
GB GR IE IT LU MC NL PT SE TR

EP1343468 Regional States: AT BE CH CY DE DK ES FI FR GB  
GR IE IT LI LU MC NL PT SE TR

Priority n° : 2000EP-0114566 20000708; 2000EP-0114566  
20000707

Covered countries : 28

Publications count : 5

## • Patentee & Inventor(s) :

Patent assignee : (COGN-) COGNIS FRANCE SA  
(CONT/) CONTET-AUDONNEAU J  
(DANO/) DANOUX L  
(PAUL/) PAULY G

Inventor(s) : CONTET-AUDONNEAU J; CONTET-  
AUDONNEAU JL; DANOUX L; PAULY G

## • Accession codes :

Accession N° : 2002-164589 [21]  
Sec. Acc. n° CPI : C2002-050874

## • Derwent codes :

Manual code : CPI: B04-C02B1 B04-C02E  
B04-F09C B04-N02 B10-A07 B10-C02  
B12-M02 B12-M02B B12-M03 B12-M11G  
B14-N17 B14-R01 D05-H08 D08-B09A3  
Derwent Classes : B04 D16 D21  
Compound Numbers : RA00GT-K  
RA00GT-M RA00GT-U RA061R-K  
RA061R-M RA0EBN-K RA0EBN-P  
R01875-K R01875-P R06436-K R06436-P  
RA0696-K RA0696-P R03231-K R03231-P  
R06437-K R06437-P R24034-K R24034-P

## • Update codes :

Basic update code :2002-21  
Equiv. update code :2002-34; 2003-62;  
2004-12; 2004-13

RA007V-K RA007V-P R00292-K R00292-M  
 R00900-K R00900-M R07861-K  
 R07861-M R04265-K R04265-M RA22F0-K  
 RA22F0-M RA2H74-K RA2H74-M

**Others :**

ICAA	A61K-008/96 [2006-01 A F I R - -]; A61K-008/02 [2006-01 A L I R - -]; A61K-008/06 [2006-01 A L I R - -]; A61K-008/30 [2006-01 A L I R - -]; A61K-008/34 [2006-01 A L I R - -]; A61K-008/36 [2006-01 A L I R - -]; A61K-008/365 [2006-01 A L I R - -]; A61K-008/72 [2006-01 A L I R - -]; A61K-008/73 [2006-01 A L I R - -]; A61K-008/99 [2006-01 A - I R - -]; A61Q-019/08 [2006-01 A L I R - -]
ICCA	A61K-008/02 [2006 C L I R - -]; A61K-008/04 [2006 C L I R - -]; A61K-008/30 [2006 C L I R - -]; A61K-008/72 [2006 C L I R - -]; A61K-008/96 [2006 C - I R - -]; A61Q-019/08 [2006 C L I R - -]
EC	A61K-008/99; A61Q-019/08
PCL	424195160
Technology Abstract	<i>PHARMACEUTICALS: Preferred Components: (I) is an aqueous extract in dried form. The composition contains (I) at 0.001-25 wt. %, and additionally contains mannitol, cyclodextrin and/or succinic acid salts (especially disodium succinate).</i>
EAB	<i>(WO2002003943 A1) The invention relates to a method for protecting the skin from aging which is characterized by topically applying an agent, containing a Saccharomyces cerevisiae extract, which stimulates the synthesis of dermal macromolecules. The invention further relates to the use of extracts from Saccharomyces cerevisiae in agents for stimulating the synthesis of dermal macromolecules.        (EP1343468 A1) The invention relates to a method for protecting the skin from aging which is characterized by topically applying an agent, containing a Saccharomyces cerevisiae extract, which stimulates the synthesis of dermal macromolecules. The invention further relates to the use of extracts from Saccharomyces cerevisiae in agents for stimulating the synthesis of dermal macromolecules.        (US20040028697 A1) An anti-aging composition containing: (a) an extract of Saccharomyces cerevisiae; and (b) optionally, an auxiliary compound selected from the group consisting of mannitol, cyclodextrin, a salt of succinic acid, and mixtures thereof.</i>
FAB	<i>(WO2002003943 A1) L'invention concerne un procédé permettant de protéger la peau humaine contre le vieillissement, caractérisé en ce qu'on utilise, par application locale, un agent renfermant un extrait de Saccharomyces cerevisiae stimulant la synthèse de macromolécules dermiques. L'invention concerne en outre l'utilisation d'extraits de Saccharomyces cerevisiae dans des agents de stimulation de la synthèse de macromolécules dermiques.</i>
GAB	<i>(WO2002003943 A1) Vorgeschlagen wird ein Verfahren zum Schutz der menschlichen Haut gegen die Alterung, dadurch gekennzeichnet, dass ein Mittel, enthaltend einen Extrakt aus</i>

*Saccharomyces cerevisiae*, welches die Synthese von dermalen Makromolekülen stimuliert topisch angewendet wird. Weiterhin wird die Verwendung von Extrakten aus *Saccharomyces cerevisiae* in Mitteln zur Stimulierung der Synthese von dermalen Makromolekülen vorgeschlagen.

Keyword Index Terms [1] 200757-CL; 200757-USE; 92005-CL; 100051-CL; 265-CL; 154729-CL; 98627-CL; 98627-PRD; 90877-CL; 90877-PRD; 97115-CL; 97115-PRD; 91481-CL; 91481-PRD; 95154-CL; 95154-PRD

DCR 200757-K 200757-M 200757-U 200799-K 200799-M 200799-U 92005-K 92005-M 98627-K 98627-P 133927-K 133927-P 133927-U 134016-P 134016-U 140603-P 140603-U 90877-K 90877-P 90877-U 97115-K 97115-P 91481-K 91481-P 95154-K 95154-P 100051-K 100051-M 100051-U 114444-U 130061-U 130300-U 142663-U 154728-U 205771-U 205774-U 205775-U 265-K 265-M 265-U 95100-U 114444-U 130061-K 130061-M 130061-U 130300-U 142663-U 154728-U 154729-K 154729-M 205771-U 205774-U 205775-U 265-U 300619-K 300619-M 95100-U 100051-U 114444-U 130061-U 130300-U 133927-P 133927-U 134016-P 134016-U 140603-P 140603-U 142663-U 154728-U 205771-U 205774-U 205775-U 265-U 90877-P 90877-U 95100-U

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES  
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum  
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum  
17. Januar 2002 (17.01.2002)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer  
**WO 02/03943 A1**

(51) Internationale Patentklassifikation<sup>7</sup>: **A61K 7/48**

F-54420 Saulxures les Nancy (FR). **CONTET-AUDON-NEAU, Jean-Luc** [FR/FR]; 3, rue des Fuchsias, F-54130 Saint-Max (FR).

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP01/07429

(22) Internationales Anmeldedatum:  
29. Juni 2001 (29.06.2001)

(74) **Anwalt: FABRY, Bernd**; Cognis Deutschland GmbH, CRT-IP, Postfach 13 01 64, 40551 Düsseldorf (DE).

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(81) **Bestimmungsstaaten (national):** AU, BR, CN, ID, IN, JP, KR, US.

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(84) **Bestimmungsstaaten (regional):** europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR).

(30) Angaben zur Priorität:  
00114566.3 8. Juli 2000 (08.07.2000) EP

**Veröffentlicht:**

- mit internationalem Recherchenbericht
- vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche geltenden Frist; Veröffentlichung wird wiederholt, falls Änderungen eintreffen

(71) **Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): COGNIS FRANCE S.A.** [FR/FR]; Boussens, F-31360 Saint-Martory (FR).

(72) **Erfinder; und**

(75) **Erfinder/Anmelder (nur für US): PAULY, Gilles** [FR/FR]; 5, rue de Begonias, F-54000 Nancy (FR).  
**DANOUX, Louis** [FR/FR]; 12, rue de Bretagne,

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.



**WO 02/03943 A1**

(54) **Title:** METHOD FOR PROTECTING THE SKIN FROM AGING

(54) **Bezeichnung:** VERFAHREN ZUM SCHUTZ DER HAUT GEGEN DIE ALTERUNG

(57) **Abstract:** The invention relates to a method for protecting the skin from aging which is characterized by topically applying an agent, containing a *Saccharomyces cerevisiae* extract, which stimulates the synthesis of dermal macromolecules. The invention further relates to the use of extracts from *Saccharomyces cerevisiae* in agents for stimulating the synthesis of dermal macromolecules.

(57) **Zusammenfassung:** Vorgeschlagen wird ein Verfahren zum Schutz der menschlichen Haut gegen die Alterung, dadurch gekennzeichnet, dass ein Mittel, enthaltend einen Extrakt aus *Saccharomyces cerevisiae*, welches die Synthese von dermalen Makromolekülen stimuliert topisch angewendet wird. Weiterhin wird die Verwendung von Extrakten aus *Saccharomyces cerevisiae* in Mitteln zur Stimulierung der Synthese von dermalen Makromolekülen vorgeschlagen.

## Verfahren zum Schutz der Haut gegen die Alterung

### Gebiet der Erfindung

Die Erfindung befindet sich auf dem Gebiet der kosmetischen und dermatologischen Pflegemittel und betrifft ein Verfahren zum Schutz der menschlichen Haut gegen die Alterung durch topische Anwendung eines Mittels welches die Synthese von dermalen Makromolekülen stimuliert. Des weiteren betrifft die Erfindung die Verwendung von Extrakten aus der Hefe *Saccharomyces cerevisiae* für Anwendungen in kosmetischen und dermatologischen Pflegemitteln.

### Stand der Technik

Die Dermis ist aufgebaut aus Zellen (Fibroblasten und Mastzellen), Gewebebestandteilen (Collagen und Elastin) und aus sogenannten Grundsubstanzen. Zu diesen Grundsubstanzen zählen Makromoleküle wie beispielsweise Glykosaminoglykane (GAG) (Hyaluronsäure, Chondroitinsulfat, Dermatansulfat) und Glycoproteine. Durch die Hautalterung vermindert sich die intermolekulare Verfestigung und Elastizität der Dermis und dadurch die Straffheit der Haut. Ebenso wird die Zahl der vorhandenen Hautzellen, insbesondere der Fibroblasten im Laufe der Hautalterung reduziert. Die Collagenfasern werden im Laufe der Zeit fragmentiert und es erhöht sich der Anteil von unlöslichen zu löslichen Collagen. Die feinen dermalen elastischen Fasern vergrößern sich und werden zerstört. Die Synthese von GAG (Glykosaminoglykan) ist vermindert. All diese Prozesse tragen zur Hautalterung und deren Erscheinungsformen wie Falten und mangelnde Straffheit der Haut bei.

Die Weiterentwicklungen auf dem Gebiet der Messverfahren führen dazu, dass neue Wirkungsweisen bereits bekannter Wirkstoffe getestet werden können und gefunden werden. Der Nachteil vieler bekannter Verfahren zur Bestimmung kosmetischer Effekte liegt in der Notwendigkeit direkt auf der Haut des Probanden zu testen wie zum Beispiel die Bestimmung von Oberflächeneigenschaften auf der Haut. Auch die Bestimmung der Wirksamkeit von Lichtschutzmitteln erfolgt durch direkte UV-Bestrahlung bestimmter Hautpartien der Probanden. Eine in vitro Bestimmung von Effekten bestimmter Wirkstoffe ist in vieler Hinsicht wünschenswert und vorteilhaft.

Es ist bekannt, dass Extrakte aus Hefen in der Medizin wichtige Therapiemöglichkeiten bieten und auch in der Kosmetik eingesetzt werden. Die Hefe *Saccharomyces cerevisiae* enthält vor allem in ihrem Zytoplasma zahlreiche Verbindungen wie Kohlenhydrate, Proteine, Lipide, Nucleinsäuren, Vitamine und Mineralstoffe wie Zink, Kupfer und Silicium. Die Hefe wurde schon im alten Ägypten zur lokalen Behandlung von Hämorrhoidalbeschwerden empfohlen und später dann zur Behandlung von Pusteln, Brandwunden und juckenden Ausschlägen angewandt. Eine antibakterielle Wirkung konnte der Hefe nachgewiesen werden. Heute noch wird die Hefe bei entzündlichen und allergischen Reaktionen der Haut verabreicht. In diesem Zusammenhang sei auf die folgenden Schriften verwiesen. Aus dem Abstract der japanischen Schrift JP 09124438 ist bekannt, dass Extrakte aus *Saccharomyces cerevisiae* als Feuchthaltemittel, als Anti-Akne Mittel oder auch als Melanin-Inhibitor eingesetzt werden



können. In der **EP 297457** wird beschrieben, dass eine bestimmte Fraktion aus der Gel-Filtration eines Extraktes aus *Saccharomyces cerevisiae* als revitalisierendes Mittel verwendet wird.

Kosmetische Zubereitungen stehen dem Verbraucher heute in einer Vielzahl von Kombinationen zur Verfügung. Dennoch besteht im Markt das Bedürfnis nach Produkten mit einem verbesserten Leistungsspektrum. Hierbei sind Hautverträglichkeit sowie der Einsatz natürlicher Produkte beim Kunden gefragt. Für die Herstellung von Produkten, die gleichzeitig eine Vielzahl von Anwendungen erlauben, besteht bisher das Problem, dass ihren Zubereitungen eine große Zahl an Wirkstoffen zugesetzt werden müssen, die gemeinsam das gewünschte Anforderungsprofil ergeben, ohne sich dabei gegenseitig zu stören oder gar unerwünschte Nebeneffekte zu erzeugen. Dem entsprechend besteht ein besonderes Interesse an Pflegemitteln, die die gewünschten Eigenschaften in sich vereinigen. Daneben ist es wünschenswert durch das Auffinden neuer Einsatzgebiete bereits bekannter Substanzklassen deutlich bessere Produkte zu erhalten. Besonders Extrakte von nachwachsenden Rohstoffen und deren Inhaltstoffe finden immer häufiger Einsatz in der Kosmetik.

### **Beschreibung der Erfindung**

Die Aufgabe der vorliegenden Patentanmeldung hat darin bestanden, ein Verfahren zur Verfügung zu stellen, bei dem durch topische Anwendung eines Mittels, welches Extrakte aus nachwachsenden Rohstoffen enthält, die menschliche Haut vor der Alterung geschützt werden kann.

Eine weitere Aufgabe der vorliegenden Patentanmeldung hat darin bestanden, neue Wirkungen von bereits bekannten Extrakten zu finden und die Verwendung dieser Extrakte in kosmetischen und/oder dermatologischen Pflegemitteln zu ermöglichen, indem Messmethoden angewendet werden, die es möglich machen, diese Wirkungen nachzuweisen.

Gegenstand der Erfindung ist ein Verfahren zum Schutz der menschlichen Haut gegen die Alterung, dadurch gekennzeichnet, dass ein Mittel, enthaltend einen Extrakt aus *Saccharomyces cerevisiae*, welches die Synthese von dermalen Makromolekülen stimuliert topisch angewendet wird.

Überraschenderweise wurde gefunden, dass durch ein Verfahren, bei dem ein Mittel topisch angewendet wird, welches die Synthese dermalen Makromoleküle stimulieren kann, die menschliche Haut vor der Alterung geschützt werden kann.

Die stimulierenden Effekte auf die Synthese dermalen Makromoleküle des Extraktes aus dem nachwachsenden Rohstoff *Saccharomyces cerevisiae* machen ihn für den Markt sehr attraktiv. Die komplexe Aufgabe der Erfindung konnte somit gelöst werden.

### **Saccharomyces cerevisiae**

Die erfindungsgemäß einzusetzenden Extrakte werden aus der Hefe *Saccharomyces cerevisiae* gewonnen. Diese Hefe wird im Volksmund auch als Bierhefe bezeichnet. Sie wird im allgemeinen zur Produktion von Nahrungs- und Genussmitteln verwendet. Es handelt sich um eine Hefe aus der Gattung der Familie Saccharomycetaceae (echte Hefen). Die Zellen sind rund, ellipsoid oder zylindrisch

und vermehren sich vegetativ durch multilaterale Knospung. *Saccharomyces cerevisiae* leben vorwiegend auf Früchten und in Pflanzensäften und sind nicht pathogen. Die Verfügbarkeit ist sehr hoch und von den Jahreszeiten unabhängig.

### Extraktion

Die Herstellung der erfindungsgemäß einzusetzenden Extrakte erfolgt durch übliche Methoden der Extraktion. Bezüglich der geeigneten herkömmlichen Extraktionsverfahren wie der Mazeration, der Remazeration, der Digestion, der Bewegungsmazeration, der Wirbelextraktion, Ultraschallextraktion, der Gegenstromextraktion, der Perkolation, der Reperkolation, der Evakolation (Extraktion unter vermindertem Druck), der Diakolation und Festflüssig-Extraktion unter kontinuierlichem Rückfluß, die in einem Soxhlet-Extraktor durchgeführt wird, die dem Fachmann geläufig und im Prinzip alle anwendbar sind, sei beispielhaft auf **Hagers Handbuch der Pharmazeutischen Praxis**, (5. Auflage, Bd. 2, S. 1026-1030, Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New-York 1991) verwiesen. Als Ausgangsmaterial können frische oder getrocknete Pilze oder Pilzbestandteile eingesetzt werden, bevorzugt ist der Einsatz von getrockneten Pilzen oder Pilzbestandteilen, üblicherweise wird jedoch von Pilzen oder Pilzbestandteilen ausgegangen, die vor der Extraktion mechanisch zerkleinert werden. Hierbei eignen sich alle dem Fachmann bekannten Zerkleinerungsmethoden, als Beispiel sei die Zerstoßung mit einem Mörser genannt.

Als Lösungsmittel für die Durchführung der Extraktionen können vorzugsweise Wasser, organische Lösungsmittel oder Gemische aus organischen Lösungsmitteln und Wasser, insbesondere niedermolekulare Alkohole, Kohlenwasserstoffe, Ketone, Ester oder halogenhaltige Kohlenwasserstoffe mit mehr oder weniger hohem Wassergehalten (destilliert oder nicht destilliert) vorzugsweise destilliertes Wasser einer Temperatur von größer oder gleich 80 °C verwendet werden. Besonders bevorzugt ist die Extraktion mit Wasser, Methanol, Ethanol, Hexan, Cyclohexan, Pentan, Aceton, Propylenglycolen, Polyethylenglycolen, Ethylacetat, Dichlormethan, Trichlormethan sowie Mischungen hieraus. Die Extraktion erfolgt in der Regel bei 50 bis 100 °C, bevorzugt bei 80°C, insbesondere bei Siedetemperatur des verwendeten Lösungsmittels. In einer möglichen Ausführungsform erfolgt die Extraktion unter Inertgasatmosphäre zur Vermeidung der Oxidation der Inhaltsstoffe des Extraktes. Die Extraktionszeiten werden vom Fachmann in Abhängigkeit vom Ausgangsmaterial, dem Extraktionsverfahren, der Extraktionstemperatur, vom Verhältnis Lösungsmittel zu Rohstoff u.a. eingestellt. Nach der Extraktion können die erhaltenen Rohextrakte gegebenenfalls weiteren üblichen Schritten, wie beispielsweise Aufreinigung, Konzentration und/oder Entfärbung unterzogen werden. Falls wünschenswert, können die so hergestellten Extrakte beispielsweise einer selektiven Abtrennung einzelner unerwünschter Inhaltsstoffe, unterzogen werden. Die Extraktion kann bis zu jedem gewünschten Extraktionsgrad erfolgen, wird aber gewöhnlich bis zur Erschöpfung durchgeführt. Typische Ausbeuten (= Trockensubstanzmenge des Extraktes bezogen auf eingesetzte Rohstoffmenge) bei der Extraktion getrockneter Pilze oder getrockneter Pilzbestandteile gegebenenfalls entfettet, liegen im Bereich von 2 bis 25, insbesondere 5 bis 20 Gew.-%. Die

vorliegende Erfindung umfasst die Erkenntnis, dass die Extraktionsbedingungen sowie die Ausbeuten der Endextrakte je nach gewünschtem Einsatzgebiet gewählt werden können. Falls gewünscht, können die Extrakte anschließend beispielsweise einer Sprüh- oder Gefriertrocknung unterworfen werden.

In einer besonderen Ausführungsform der Erfindung handelt es sich bei dem Extrakt aus *Saccharomyces cerevisiae* um das getrocknete Produkt des wässrigen Extraktes.

Die Einsatzmenge der Hefeextrakte in den genannten Zubereitungen richtet sich nach der Art der Anwendungen der Extrakte und nach der Konzentration der einzelnen Inhaltstoffe. Die Gesamtmenge des Extraktes bevorzugt als Trockenprodukt insbesondere aus dem wässrigen Extrakt, der in den erfindungsgemäßen Zubereitungen enthalten ist, beträgt in der Regel 0,001 bis 25 Gew.-%, vorzugsweise 0,005 bis 5 Gew.-%, insbesondere 0,01 bis 0,5 Gew.-% bezogen auf die Endzubereitung, mit der Maßgabe, dass sich die Mengenangaben mit Wasser und gegebenenfalls weiteren Hilfs- und Zusatzstoffen zu 100 Gew.-% addieren.

In einer weiteren besonderen Ausführungsform der Erfindung enthalten die Mittel des erfindungsgemäßen Verfahrens weiterhin als Zusatzstoffe Mannitol, und/oder Cyclodextrin und/oder Salze der Bernsteinsäure, insbesondere das Dinatriumsalz der Bernsteinsäure. Neben den genannten Zusatzstoffen können noch weitere Hilfs- und Zusatzstoffe enthalten sein.

Der Gesamtanteil der Hilfs- und Zusatzstoffe kann 1 bis 50, vorzugsweise 5 bis 40 Gew.-% - bezogen auf die Endzubereitung der kosmetischen und/oder pharmazeutischen Zubereitungen - betragen. Die Herstellung der Zubereitungen kann durch übliche Kalt - oder Heißprozesse erfolgen; vorzugsweise arbeitet man nach der Phaseninversionstemperatur-Methode.

Die Begriffe Zubereitungen, Endzubereitungen und Mittel sind im Sinne der Erfindung mit dem Begriff Pflegemittel gleichzusetzen.

Aktivsubstanz im Sinne der Erfindung bezieht sich auf den Anteil an Substanzen sowie Hilfs- und Zusatzstoffen, die in den Zubereitungen enthaltend sind, mit Ausnahme des zusätzlich hinzugefügten Wassers.

Die Mittel für das erfindungsgemäße Verfahren zeigen eine hervorragende hautpflegende Wirkung bei gleichzeitig hoher Hautverträglichkeit. Außerdem zeigen sie eine gute Stabilität, insbesondere gegenüber oxidativer Zersetzung der Produkte.

In einer weiteren Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens handelt es sich bei den dermalen Makromolekülen um solche, die ausgewählt sind aus der Gruppe, die gebildet wird aus Glykosaminoglykane insbesondere Chondroitinsulfat, Keratansulfat, Dermatansulfat und Hyaluronsäure, Collagen insbesondere Collagen Typ III, Elastin, Fibronectin, Proteoglycanen und deren Salze.

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist die Verwendung von Extrakten der Hefe *Saccharomyces cerevisiae* in kosmetischen und/oder dermatologischen Mitteln zur Stimulierung der Synthese von



dermalen Makromolekülen ausgewählt aus der Gruppe, die gebildet wird aus Glykosaminoglykane insbesondere Chondroitinsulfat, Keratansulfat und Hyaluronsäure, Collagen, Elastin, Fibronectin, Proteoglycanen und deren Salze.

Das erfindungsgemäße Verfahren führt durch die Stimulierung der Synthese dermalen Makromoleküle zum Schutz der menschlichen Haut vor der Alterung. Des weiteren kann durch das erfindungsgemäße Verfahren durch die Stimulierung der Synthese dermalen Makromoleküle zur vorbeugenden oder heilenden Behandlung von Alterserscheinungen der Haut kommen. Eine andere Bezeichnung für diese Art der Pflegemittel ist auch anti-aging Mittel. Zu diesen Alterserscheinungen zählen beispielsweise jede Art der Fältchen- und Faltenbildung. Die Behandlungen schließen eine Verlangsamung von Altersprozessen der Haut mit ein. Die Alterserscheinungen können die unterschiedlichsten Ursachen aufweisen.

#### Dermale Makromoleküle

Als dermale Makromoleküle sind im Sinne der Erfindung prinzipiell alle Makromoleküle zu verstehen, die als Bestandteile der Haut entweder in der Basalmembran zwischen Dermis und Epidermis oder in der Dermis und Epidermis direkt zu finden sind. Es handelt sich im Besonderen um Verbindungen die ausgewählt sind aus der Gruppe, die gebildet wird von Glycosaminoglycanen, Collagen, Elastin, Proteoglycanen, Fibronectinen und deren Salze.

**Glykosaminoglykane** werden auch als Mucopolysaccharide bezeichnet und sind negativ geladene Polysaccharide (Glykane), welche aus 1,4-verknüpften Einheiten von Disacchariden bestehen, in denen 1 Mol. einer sogenannten Uronsäure (z. B. D-Glucuronsäure, L-Iduronsäure) mit der 3-Stellung eines N-acetylierten Aminosuckers (Glykosamins) glykosidisch verbunden ist. Nach der Natur dieses Aminosuckers unterscheidet man D-Glucosamino- u. D-Galactosaminoglykane. Häufig ist auch noch Schwefelsäure an Sauerstoff- oder Stickstoff-Atome gebunden, so daß die Glykosaminoglykane meist stark sauer reagieren. Mit Ausnahme der Hyaluronsäure sind die Glykosaminoglykane im Gewebe zu mehreren Ketten an ein Kern-Protein (core protein) gebunden und bilden somit Proteoglykane. Als Gerüstsubstanzen kommen sie in der Haut vor. Erfindungsgemäß wird bevorzugt die Synthese der Glykosaminoglykanen stimuliert, die ausgewählt sind aus der Gruppe, die gebildet wird von Chondroitinsulfate, Keratansulfat, Dermatansulfat und Hyaluronsäure

**Collagen** besteht aus Proteinfasern und kommt in menschlicher Haut in drei verschiedenen Typen (Typ I, III und IV) vor. Im Collagen sind die einzelnen Polypeptidketten, die jeweils viel von der Aminosäure Prolin und als jeden dritten Rest Glycin enthalten, umeinander zu einer Tripelhelix gewunden. Die Collagenfasern werden als Tropokollagen in den Fibroblasten synthetisiert und in die extrazelluläre Matrix ausgeschleust. Die erfindungsgemäße Stimulierung der Synthese des Collagens führt zu einer Erhöhung der Produktion an Collagen und damit zu einer erhöhten intermolekularen Verfestigung der Dermis und dadurch zu einer straffer erscheinenden Haut. Das **Elastin** ist ebenfalls ein faserartiges Protein. Hierbei handelt es sich um unstrukturierte kovalent quervernetzte Polypeptidketten, die ein

gummiähnliches elastisches Material bilden. Das Elastin wird nach der Synthese in den Hautzellen in die extrazelluläre Matrix ausgeschleust. Die erfindungsgemäße Stimulierung der Synthese der Elastin-Polypeptidketten führt zu einer Erhöhung der Produktion an Elastin und damit zu einer Erhöhung der Elastizität der Haut.

Die **Proteoglycane** bestehen wie die Glycoproteine aus Kohlenhydraten und aus Proteinen, bei den Proteoglycanen überwiegt jedoch der Anteil an Polysacchariden. Die Proteoglycane der Haut enthalten Dermatansulfat. Es lagern sich ca. 140 solcher Proteoglycane mit Hilfe kleinerer Proteine (Link-Proteine) nichtkovalent an eine Hyaluronsäure-Kette zu Molekül-Aggregaten mit einer mittleren Molmasse von ca. 2 Mio. an. Die durch ihr Wasserbindevermögen ausgezeichneten polyanionischen Aggregate können feste Gele bilden, die dem Stützgewebe (extrazelluläre Matrix) Elastizität und Zugfestigkeit verleihen. In Schleimen schützen sie die Epithelien. Die erfindungsgemäße Stimulierung der Synthese von Proteoglycanen und Hyaluronsäure führt zu einer größeren Menge an extrazellulärer Matrix und damit zu einer erhöhten Elastizität und Zugfestigkeit.

**Fibronectin** stellt eine Gruppe hochmolekularer Glykoproteine (MR des Dimers ca. 440 000–550 000) dar, die sich in der extrazellulären Matrix und in extrazellulären Flüssigkeiten finden. Das durch zwei Disulfid-Brücken verbundene Fibronectin-Dimer, ein langgestrecktes Molekül mit den Abmessungen  $600 \times 25 \text{ \AA}$ , bindet durch lineare Kombination dreier verschiedener sich wiederholender Domänen u. a. Collagene, Glykosaminoglykane, Proteoglykane, Fibrin(ogen), Desoxyribonucleinsäuren, Immunglobuline, Plasminogen, Plasminogen-Aktivator, Thrombospondin, Zellen und Mikroorganismen. Durch diese Eigenschaften vermittelt es z. B. die Anhaftung von Bindegewebszellen an Collagen-Fibrillen oder von Thrombocyten und Fibroblasten an Fibrin (Beitrag zur Wundheilung).

Die **Hyaluronsäure** ist ein saures Glykosaminoglykan, Grundbaustein der Hyaluronsäure ist ein aus D-Glucuronsäure und N-Acetyl-D-glucosamin in (beta 1-3)-glykosidischer Bindung aufgebautes Aminodisaccharid, das mit der nächsten Einheit (beta 1-4)-glykosidisch verbunden ist.

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist die Verwendung von Extrakten aus *Saccharomyces cerevisiae* in Mitteln zur Stimulierung der Synthese von dermalen Makromolekülen

In weiteren besonderen Ausführungsformen der erfindungsgemäßen Verwendung handelt es sich bei dem Extrakt aus *Saccharomyces cerevisiae* um das getrocknete Produkt des wässrigen Extraktes und enthalten die Mittel zwischen 0,001 und 25 Gew.-% Extrakt aus *Saccharomyces cerevisiae*, vorzugsweise 0,005 bis 5 Gew.-%, insbesondere 0,01 bis 0,5 Gew.-% bezogen auf die Endzubereitung, mit der Maßgabe, dass sich die Mengenangaben mit Wasser und gegebenenfalls weiteren Hilfs- und Zusatzstoffen zu 100 Gew.-% addieren.

Weiterhin enthalten die Mittel die für die Erfindungsgemäßen Verwendung verwendet werden in einer besonderen Ausführungsform weiterhin Mannitol, und/oder Cyclodextrin und/oder Salze der Bernsteinsäure, insbesondere das Dinatriumsalz der Bernsteinsäure.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform der erfindungsgemäßen Verwendung handelt es sich bei den dermalen Makromolekülen um Substanzen, die ausgewählt sind aus der Gruppe, die gebildet wird von Glykosaminoglykanen insbesondere Chondroitinsulfat, Keratansulfat, Dermatansulfat und Hyaluronsäure, Elastin, Collagen, insbesondere Collagen Typ III, Fibronectin und Proteoglycanen und deren Salze.

Prinzipiell kann man die erfindungsgemäßen Extrakte in allen kosmetischen Produkten einsetzen. Beispiele für kosmetische Produkte sind in ihren Formulierungen in den Tabelle 2 bis 4 beschrieben.

#### Kosmetische und/oder dermatologische Zubereitungen

Das erfindungsgemäße Verfahren beinhaltet die topische Anwendung von Mitteln die die Synthese von dermalen Makromolekülen stimuliert. Diese Mittel können zur Herstellung von kosmetischen und/oder dermatologischen Zubereitungen, wie beispielsweise Schaumbäder, Duschbäder, Cremes, Gele, Lotionen, alkoholische und wässrig/alkoholische Lösungen, Emulsionen, Wachs/ Fett-Massen, Stiftpräparaten, Pudern oder Salben dienen. Diese Mittel können ferner als weitere Hilfs- und Zusatzstoffe milde Tenside, Ölkörper, Emulgatoren, Perlglanzwachse, Konsistenzgeber, Verdickungsmittel, Überfettungsmittel, Stabilisatoren, Polymere, Siliconverbindungen, Fette, Wachse, Lecithine, Phospholipide, biogene Wirkstoffe, UV-Lichtschutzfaktoren, Antioxidantien, Deodorantien, Antitranspirantien, Filmbildner, Quellmittel, Insektenrepellentien, Hydrotrope, Solubilisatoren, Konservierungsmittel, Parfümöle, Farbstoffe und dergleichen enthalten.

#### Tenside

Als oberflächenaktive Stoffe können anionische, nichtionische, kationische und/oder amphotere bzw. amphotere Tenside enthalten sein, deren Anteil an den Mitteln üblicherweise bei etwa 1 bis 70, vorzugsweise 5 bis 50 und insbesondere 10 bis 30 Gew.-% beträgt. Typische Beispiele für anionische Tenside sind Seifen, Alkylbenzolsulfonate, Alkansulfonate, Olefinsulfonate, Alkylethersulfonate, Glycerinethersulfonate,  $\alpha$ -Methylestersulfonate, Sulfofettsäuren, Alkylsulfate, Fettalkoholethersulfate, Glycerinethersulfate, Fettsäureethersulfate, Hydroxymischethersulfate, Monoglycerid(ether)sulfate, Fettsäureamid(ether)sulfate, Mono- und Dialkylsulfosuccinate, Mono- und Dialkylsulfosuccinamate, Sulfotriglyceride, Amidseifen, Ethercarbonsäuren und deren Salze, Fettsäureisethionate, Fettsäuresarcosinate, Fettsäuretauride, N-Acylaminosäuren, wie beispielsweise Acyllactylate, Acyltartrate, Acylglutamate und Acylaspartate, Alkyloligoglycosidsulfate, Proteinfettsäurekondensate (insbesondere pflanzliche Produkte auf Weizenbasis) und Alkyl(ether)phosphate. Sofern die anionischen Tenside Polyglycoletherketten enthalten, können diese eine konventionelle, vorzugsweise jedoch eine eingeeengte Homologenverteilung aufweisen. Typische Beispiele für nichtionische Tenside sind Fettalkoholpolyglycolether, Alkylphenolpolyglycolether, Fettsäurepolyglycolester, Fettsäureamidpolyglycolether, Fettaminpolyglycolether, alkoxylierte Triglyceride, Mischether bzw. Mischformale, gegebenenfalls partiell oxidierte Alk(en)yloligoglykoside bzw. Glucuronsäurederivate, Fettsäure-N-alkylglucamide, Proteinhydrolysate (insbesondere pflanzliche Produkte auf Weizenbasis), Polyolfettsäureester, Zuckerester, Sorbitanester, Polysorbate und Aminoxide. Sofern die nichtionischen



Tenside Polyglycoetherketten enthalten, können diese eine konventionelle, vorzugsweise jedoch eine eingeeengte Homologenverteilung aufweisen. Typische Beispiele für kationische Tenside sind quartäre Ammoniumverbindungen, wie beispielsweise das Dimethyldistearylammmoniumchlorid, und Esterquats, insbesondere quaternierte Fettsäuretrialkanolaminestersalze. Typische Beispiele für amphotere bzw. zwitterionische Tenside sind Alkylbetaine, Alkylamidobetaine, Aminopropionate, Aminoglycinate, Imidazoliniumbetaine und Sulfobetaine. Bei den genannten Tensiden handelt es sich ausschließlich um bekannte Verbindungen. Hinsichtlich Struktur und Herstellung dieser Stoffe sei auf einschlägige Übersichtsarbeiten beispielsweise J.Falbe (ed.), **"Surfactants in Consumer Products"**, Springer Verlag, Berlin, 1987, S. 54-124 oder J.Falbe (ed.), **"Katalysatoren, Tenside und Mineralöladditive"**, Thieme Verlag, Stuttgart, 1978, S. 123-217 verwiesen. Typische Beispiele für besonders geeignete milde, d.h. besonders hautverträgliche Tenside sind Fettalkoholpolyglycoethersulfate, Monoglyceridsulfate, Mono- und/oder Dialkylsulfosuccinate, Fettsäureisethionate, Fettsäuresarcosinate, Fettsäuretauride, Fettsäureglutamate,  $\alpha$ -Olefinsulfonate, Ethercarbonsäuren, Alkyloligoglucoside, Fettsäureglucamide, Alkylamidobetaine, Amphoacetale und/oder Proteinfettsäurekondensate, letztere vorzugsweise auf Basis von Weizenproteinen.

### Ölkörper

Als Ölkörper kommen beispielsweise Guerbetalkohole auf Basis von Fettalkoholen mit 6 bis 18, vorzugsweise 8 bis 10 Kohlenstoffatomen, Ester von linearen C<sub>6</sub>-C<sub>22</sub>-Fettsäuren mit linearen oder verzweigten C<sub>6</sub>-C<sub>22</sub>-Fettalkoholen bzw. Ester von verzweigten C<sub>6</sub>-C<sub>13</sub>-Carbonsäuren mit linearen oder verzweigten C<sub>6</sub>-C<sub>22</sub>-Fettalkoholen, wie z.B. Myristylmyristat, Myristylpalmitat, Myristylstearat, Myristylisostearat, Myristyloleat, Myristylbehenat, Myristylrucat, Cetylmyristat, Cetylpalmitat, Cetylstearat, Cetylisostearat, Cetyloleat, Cetylbehenat, Cetylerucat, Stearylmyristat, Stearylpalmitat, Stearylstearat, Stearylisostearat, Stearyloleat, Stearylbehenat, Stearylerucat, Isostearylmyristat, Isostearylpalmitat, Isostearylstearat, Isostearylisostearat, Isostearyloleat, Isostearylbehenat, Isostearyloleat, Oleylmyristat, Oleylpalmitat, Oleylsteat, Oleylisostearat, Oleyloleat, Oleylbehenat, Oleylerucat, Behenylmyristat, Behenylpalmitat, Behenylstearat, Behenylisostearat, Behenylleat, Behenylbehenat, Behenylrucat, Erucylmyristat, Erucylpalmitat, Erucylstearat, Erucylisostearat, Erucyloleat, Erucylbehenat und Erucylrucat. Daneben eignen sich Ester von linearen C<sub>6</sub>-C<sub>22</sub>-Fettsäuren mit verzweigten Alkoholen, insbesondere 2-Ethylhexanol, Ester von C<sub>18</sub>-C<sub>38</sub>-Alkylhydroxycarbonsäuren mit linearen oder verzweigten C<sub>6</sub>-C<sub>22</sub>-Fettalkoholen (vgl. DE 19756377 A1), insbesondere Dioctyl Malate, Ester von linearen und/oder verzweigten Fettsäuren mit mehrwertigen Alkoholen (wie z.B. Propylenglycol, Dimerdiol oder Trimertriol) und/oder Guerbetalkoholen, Triglyceride auf Basis C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>-Fettsäuren, flüssige Mono-/Di-/Triglyceridmischungen auf Basis von C<sub>6</sub>-C<sub>18</sub>-Fettsäuren, Ester von C<sub>6</sub>-C<sub>22</sub>-Fettalkoholen und/oder Guerbetalkoholen mit aromatischen Carbonsäuren, insbesondere Benzoesäure, Ester von C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub>-Dicarbonsäuren mit linearen oder verzweigten Alkoholen mit 1 bis 22 Kohlenstoffatomen oder Polyolen mit 2 bis 10 Kohlenstoffatomen und 2 bis 6 Hydroxylgruppen, pflanzliche Öle, verzweigte primäre Alkohole, substituierte Cyclohexane,

lineare und verzweigte C<sub>6</sub>-C<sub>22</sub>-Fettalkoholcarbonate, wie z.B. Dicaprylyl Carbonate (Cetiol® CC), Guerbetcarbonate auf Basis von Fettalkoholen mit 6 bis 18, vorzugsweise 8 bis 10 C Atomen, Ester der Benzoesäure mit linearen und/oder verzweigten C<sub>6</sub>-C<sub>22</sub>-Alkoholen (z.B. Finsolv® TN), lineare oder verzweigte, symmetrische oder unsymmetrische Dialkylether mit 6 bis 22 Kohlenstoffatomen pro Alkylgruppe, wie z.B. Dicaprylyl Ether (Cetiol® OE), Ringöffnungsprodukte von epoxidierten Fettsäureestern mit Polyolen, Siliconöle (Cyclomethicone, Siliciummethicontypen u.a.) und/oder aliphatische bzw. naphthenische Kohlenwasserstoffe, wie z.B. wie Squalan, Squalen oder Dialkylcyclohexane in Betracht.

### Emulgatoren

Als Emulgatoren kommen beispielsweise nichtionogene Tenside aus mindestens einer der folgenden Gruppen in Frage:

- Anlagerungsprodukte von 2 bis 30 Mol Ethylenoxid und/ oder 0 bis 5 Mol Propylenoxid an lineare Fettalkohole mit 8 bis 22 C-Atomen, an Fettsäuren mit 12 bis 22 C-Atomen, an Alkylphenole mit 8 bis 15 C-Atomen in der Alkylgruppe sowie Alkylamine mit 8 bis 22 Kohlenstoffatomen im Alkylrest;
- Alkyl- und/oder Alkenyloligoglykoside mit 8 bis 22 Kohlenstoffatomen im Alk(en)ylrest und deren ethoxylierte Analoga;
- Anlagerungsprodukte von 1 bis 15 Mol Ethylenoxid an Ricinusöl und/oder gehärtetes Ricinusöl;
- Anlagerungsprodukte von 15 bis 60 Mol Ethylenoxid an Ricinusöl und/oder gehärtetes Ricinusöl;
- Partialester von Glycerin und/oder Sorbitan mit ungesättigten, linearen oder gesättigten, verzweigten Fettsäuren mit 12 bis 22 Kohlenstoffatomen und/oder Hydroxycarbonsäuren mit 3 bis 18 Kohlenstoffatomen sowie deren Addukte mit 1 bis 30 Mol Ethylenoxid;
- Partialester von Polyglycerin (durchschnittlicher Eigenkondensationsgrad 2 bis 8), Polyethylenglycol (Molekulargewicht 400 bis 5000), Trimethylolpropan, Pentaerythrit, Zuckeralkoholen (z.B. Sorbit), Alkylglucosiden (z.B. Methylglucosid, Butylglucosid, Laurylglucosid) sowie Polyglucosiden (z.B. Cellulose) mit gesättigten und/oder ungesättigten, linearen oder verzweigten Fettsäuren mit 12 bis 22 Kohlenstoffatomen und/oder Hydroxycarbonsäuren mit 3 bis 18 Kohlenstoffatomen sowie deren Addukte mit 1 bis 30 Mol Ethylenoxid;
- Mischester aus Pentaerythrit, Fettsäuren, Citronensäure und Fettalkohol gemäß **DE 1165574 PS** und/oder Mischester von Fettsäuren mit 6 bis 22 Kohlenstoffatomen, Methylglucose und Polyolen, vorzugsweise Glycerin oder Polyglycerin.
- Mono-, Di- und Trialkylphosphate sowie Mono-, Di- und/oder Tri-PEG-alkylphosphate und deren Salze;
- Wollwachsalkohole;
- Polysiloxan-Polyalkyl-Polyether-Copolymere bzw. entsprechende Derivate;
- Block-Copolymere z.B. Polyethylenglycol-30 Dipolyhydroxystearate;
- Polymeremulgatoren, z.B. Pemulen-Typen (TR-1, TR-2) von Goodrich;
- Polyalkylenglycole sowie
- Glycerincarbonat.



Die Anlagerungsprodukte von Ethylenoxid und/oder von Propylenoxid an Fettalkohole, Fettsäuren, Alkylphenole oder an Ricinusöl stellen bekannte, im Handel erhältliche Produkte dar. Es handelt sich dabei um Homologengemische, deren mittlerer Alkoxylierungsgrad dem Verhältnis der Stoffmengen von Ethylenoxid und/ oder Propylenoxid und Substrat, mit denen die Anlagerungsreaktion durchgeführt wird, entspricht. C<sub>12/18</sub>-Fettsäuremono- und -diester von Anlagerungsprodukten von Ethylenoxid an Glycerin sind aus **DE 2024051 PS** als Rückfettungsmittel für kosmetische Zubereitungen bekannt.

Alkyl- und/oder Alkenyloligoglycoside, ihre Herstellung und ihre Verwendung sind aus dem Stand der Technik bekannt. Ihre Herstellung erfolgt insbesondere durch Umsetzung von Glucose oder Oligosacchariden mit primären Alkoholen mit 8 bis 18 Kohlenstoffatomen. Bezüglich des Glycosidrestes gilt, daß sowohl Monoglycoside, bei denen ein cyclischer Zuckerrest glycosidisch an den Fettalkohol gebunden ist, als auch oligomere Glycoside mit einem Oligomerisationsgrad bis vorzugsweise etwa 8 geeignet sind. Der Oligomerisierungsgrad ist dabei ein statistischer Mittelwert, dem eine für solche technischen Produkte übliche Homologenverteilung zugrunde liegt.

Typische Beispiele für geeignete Partialglyceride sind Hydroxystearinsäuremonoglycerid, Hydroxystearinsäurediglycerid, Isostearinsäuremonoglycerid, Isostearinsäurediglycerid, Ölsäuremonoglycerid, Ölsäurediglycerid, Ricinolsäuremonoglycerid, Ricinolsäurediglycerid, Linolsäuremonoglycerid, Linolsäurediglycerid, Linolensäuremonoglycerid, Linolensäurediglycerid, Erucasäuremonoglycerid, Erucasäurediglycerid, Weinsäuremonoglycerid, Weinsäurediglycerid, Citronensäuremonoglycerid, Citronendiglycerid, Äpfelsäuremonoglycerid, Äpfelsäurediglycerid sowie deren technische Gemische, die untergeordnet aus dem Herstellungsprozeß noch geringe Mengen an Triglycerid enthalten können. Ebenfalls geeignet sind Anlagerungsprodukte von 1 bis 30, vorzugsweise 5 bis 10 Mol Ethylenoxid an die genannten Partialglyceride.

Als Sorbitanester kommen Sorbitanmonoisostearat, Sorbitansesquiisostearat, Sorbitandiisostearat, Sorbitantriisostearat, Sorbitanmonooleat, Sorbitansesquioleat, Sorbitandioleat, Sorbitantrioleat, Sorbitanmonoerucat, Sorbitansesquierucat, Sorbitandierucat, Sorbitantrierucat, Sorbitanmonoricinoleat, Sorbitansesquiricinoleat, Sorbitandiricinoleat, Sorbitantriricinoleat, Sorbitanmonohydroxystearat, Sorbitansesquihydroxystearat, Sorbitandihydroxystearat, Sorbitantrihydroxystearat, Sorbitanmonotartrat, Sorbitansesquitartrat, Sorbitanditartrat, Sorbitantritartrat, Sorbitanmonocitrat, Sorbitansesquicitrat, Sorbitandicitrat, Sorbitantricitrat, Sorbitanmonomaleat, Sorbitansesquimaleat, Sorbitandimaleat, Sorbitantrimaleat sowie deren technische Gemische. Ebenfalls geeignet sind Anlagerungsprodukte von 1 bis 30, vorzugsweise 5 bis 10 Mol Ethylenoxid an die genannten Sorbitanester.

Typische Beispiele für geeignete Polyglycerinester sind Polyglyceryl-2 Dipolyhydroxystearate (Dehymuls® PGPH), Polyglycerin-3-Diisostearate (Lameform® TGI), Polyglyceryl-4 Isostearate (Isolan® GI 34), Polyglyceryl-3 Oleate, Diisostearoyl Polyglyceryl-3 Diisostearate (Isolan® PDI), Polyglyceryl-3 Methylglucose Distearate (Tego Care® 450), Polyglyceryl-3 Beeswax (Cera Bellina®), Polyglyceryl-4 Caprate (Polyglycerol Caprate T2010/90), Polyglyceryl-3 Cetyl Ether (Chimexane® NL), Polyglyceryl-3

Distearate (Cremophor® GS 32) und Polyglyceryl Polyricinoleate (Admul® WOL 1403) Polyglyceryl Dimerate Isostearate sowie deren Gemische. Beispiele für weitere geeignete Polyolester sind die gegebenenfalls mit 1 bis 30 Mol Ethylenoxid umgesetzten Mono-, Di- und Triester von Trimethylolpropan oder Pentaerythrit mit Laurinsäure, Kokosfettsäure, Talgfettsäure, Palmitinsäure, Stearinsäure, Ölsäure, Behensäure und dergleichen.

Weiterhin können als Emulgatoren zwitterionische Tenside verwendet werden. Als zwitterionische Tenside werden solche oberflächenaktiven Verbindungen bezeichnet, die im Molekül mindestens eine quartäre Ammoniumgruppe und mindestens eine Carboxylat- und eine Sulfonatgruppe tragen. Besonders geeignete zwitterionische Tenside sind die sogenannten Betaine wie die N-Alkyl-N,N-dimethylammoniumglycinate, beispielsweise das Kokosalkyldimethylammoniumglycinat, N-Acylaminopropyl-N,N-dimethylammoniumglycinate, beispielsweise das Kokosacylaminopropyldimethylammoniumglycinat, und 2-Alkyl-3-carboxylmethyl-3-hydroxyethylimidazoline mit jeweils 8 bis 18 C-Atomen in der Alkyl- oder Acylgruppe sowie das Kokosacylaminoethylhydroxyethylcarboxymethylglycinat. Besonders bevorzugt ist das unter der CTFA-Bezeichnung *Cocamidopropyl Betaine* bekannte Fettsäureamid-Derivat. Ebenfalls geeignete Emulgatoren sind ampholytische Tenside. Unter ampholytischen Tensiden werden solche oberflächenaktiven Verbindungen verstanden, die außer einer C<sub>8/18</sub>-Alkyl- oder -Acylgruppe im Molekül mindestens eine freie Aminogruppe und mindestens eine -COOH- oder -SO<sub>3</sub>H-Gruppe enthalten und zur Ausbildung innerer Salze befähigt sind. Beispiele für geeignete ampholytische Tenside sind N-Alkylglycine, N-Alkylpropionsäuren, N-Alkylaminobuttersäuren, N-Alkyliminodipropionsäuren, N-Hydroxyethyl-N-alkylamidopropylglycine, N-Alkyltaurine, N-Alkylsarcosine, 2-Alkylaminopropionsäuren und Alkylaminoessigsäuren mit jeweils etwa 8 bis 18 C-Atomen in der Alkylgruppe. Besonders bevorzugte ampholytische Tenside sind das N-Kokosalkylaminopropionat, das Kokosacylaminoethylaminopropionat und das C<sub>12/18</sub>-Acylsarcosin. Schließlich kommen auch Kationtenside als Emulgatoren in Betracht, wobei solche vom Typ der Esterquats, vorzugsweise methylquaternierte Difettsäuretriethanolaminester-Salze, besonders bevorzugt sind.

### Fette und Wachse

Typische Beispiele für Fette sind Glyceride, d.h. feste oder flüssige pflanzliche oder tierische Produkte, die im wesentlichen aus gemischten Glycerinestern höherer Fettsäuren bestehen, als Wachse kommen u.a. natürliche Wachse, wie z.B. Candelillawachs, Carnaubawachs, Japanwachs, Espartograswachs, Korkwachs, Guarumawachs, Reiskeimölwachs, Zuckerrohrwachs, Ouricurywachs, Montanwachs, Bienenwachs, Schellackwachs, Walrat, Lanolin (Wollwachs), Bürzelfett, Ceresin, Ozokerit (Erdwachs), Petrolatum, Paraffinwachse, Mikrowachse; chemisch modifizierte Wachse (Hartwachse), wie z.B. Montanesterwachse, Sasolwachse, hydrierte Jojobawachse sowie synthetische Wachse, wie z.B. Polyalkylenwachse und Polyethylenglycolwachse in Frage. Neben den Fetten kommen als Zusatzstoffe auch fettähnliche Substanzen, wie Lecithine und Phospholipide in Frage. Unter der Bezeichnung Lecithine versteht der Fachmann diejenigen Glycero-Phospholipide, die sich aus Fettsäuren, Glycerin,

Phosphorsäure und Cholin durch Veresterung bilden. Lecithine werden in der Fachwelt daher auch häufig als Phosphatidylcholine (PC). Als Beispiele für natürliche Lecithine seien die Kepheline genannt, die auch als Phosphatidsäuren bezeichnet werden und Derivate der 1,2-Diacyl-sn-glycerin-3-phosphorsäuren darstellen. Dem gegenüber versteht man unter Phospholipiden gewöhnlich Mono- und vorzugsweise Diester der Phosphorsäure mit Glycerin (Glycerinphosphate), die allgemein zu den Fetten gerechnet werden. Daneben kommen auch Sphingosine bzw. Sphingolipide in Frage.

#### Perlglanzwachse

Als Perlglanzwachse kommen beispielsweise in Frage: Alkylenglycolester, speziell Ethylenglycoldi-stearat; Fettsäurealkanolamide, speziell Kokosfettsäurediethanolamid; Partialglyceride, speziell Stearinsäuremonoglycerid; Ester von mehrwertigen, gegebenenfalls hydroxysubstituierte Carbonsäuren mit Fettalkoholen mit 6 bis 22 Kohlenstoffatomen, speziell langkettige Ester der Weinsäure; Fettstoffe, wie beispielsweise Fettalkohole, Fettketone, Fettaldehyde, Fettether und Fettcarbonate, die in Summe mindestens 24 Kohlenstoffatome aufweisen, speziell Lauron und Distearylether; Fettsäuren wie Stearinsäure, Hydroxystearinsäure oder Behensäure, Ringöffnungsprodukte von Olefinepoxiden mit 12 bis 22 Kohlenstoffatomen mit Fettalkoholen mit 12 bis 22 Kohlenstoffatomen und/oder Polyolen mit 2 bis 15 Kohlenstoffatomen und 2 bis 10 Hydroxylgruppen sowie deren Mischungen.

#### Konsistenzgeber und Verdickungsmittel

Als Konsistenzgeber kommen in erster Linie Fettalkohole oder Hydroxyfettalkohole mit 12 bis 22 und vorzugsweise 16 bis 18 Kohlenstoffatomen und daneben Partialglyceride, Fettsäuren oder Hydroxyfettsäuren in Betracht. Bevorzugt ist eine Kombination dieser Stoffe mit Alkyloligoglucosiden und/oder Fettsäure-N-methylglucamiden gleicher Kettenlänge und/oder Polyglycerinpoly-12-hydroxystearaten. Geeignete Verdickungsmittel sind beispielsweise Aerosil-Typen (hydrophile Kieselsäuren), Polysaccharide, insbesondere Xanthan-Gum, Guar-Guar, Agar-Agar, Alginate und Tylosen, Carboxymethylcellulose und Hydroxyethylcellulose, ferner höhermolekulare Polyethylenglycolmono- und -diester von Fettsäuren, Polyacrylate, (z.B. Carbopole® und Pemulen-Typen von Goodrich; Synthalene® von Sigma; Keltrol-Typen von Kelco; Sepigel-Typen von Seppic; Salcare-Typen von Allied Colloids), Polyacrylamide, Polymere, Polyvinylalkohol und Polyvinylpyrrolidon, Tenside wie beispielsweise ethoxylierte Fettsäureglyceride, Ester von Fettsäuren mit Polyolen wie beispielsweise Pentaerythrit oder Trimethylolpropan, Fettalkoholethoxylate mit eingengerter Homologenverteilung oder Alkyloligoglucoside sowie Elektrolyte wie Kochsalz und Ammoniumchlorid.

#### Überfettungsmittel

Als Überfettungsmittel können Substanzen wie beispielsweise Lanolin und Lecithin sowie polyethoxylierte oder acylierte Lanolin- und Lecithinderivate, Polyolfettsäureester, Monoglyceride und Fettsäurealkanolamide verwendet werden, wobei die letzteren gleichzeitig als Schaumstabilisatoren dienen.



Stabilisatoren

Als Stabilisatoren können Metallsalze von Fettsäuren, wie z.B. Magnesium-, Aluminium- und/oder Zinkstearat bzw. -ricinoleat eingesetzt werden.

Polymere

Geeignete kationische Polymere sind beispielsweise kationische Cellulosederivate, wie z.B. eine quaternierte Hydroxyethylcellulose, die unter der Bezeichnung Polymer JR 400® von Amerchol erhältlich ist, kationische Stärke, Copolymere von Diallylammoniumsalzen und Acrylamiden, quaternierte Vinylpyrrolidon/Vinylimidazol-Polymere, wie z.B. Luviquat® (BASF), Kondensationsprodukte von Polyglycolen und Aminen, quaternierte Kollagenpolypeptide, wie beispielsweise Lauryldimonium Hydroxypropyl Hydrolyzed Collagen (Lamequat®/Grünau), quaternierte Weizenpolypeptide, Polyethylenimin, kationische Siliconpolymere, wie z.B. Amodimethicone, Copolymere der Adipinsäure und Dimethylaminohydroxypropyldiethylentriamin (Cartaretine®/Sandoz), Copolymere der Acrylsäure mit Dimethyl-diallylammoniumchlorid (Merquat® 550/Chemvicon), Polyaminopolyamide, wie z.B. beschrieben in der **FR 2252840 A** sowie deren vernetzte wasserlöslichen Polymere, kationische Chitinderivate wie beispielsweise quaterniertes Chitosan, gegebenenfalls mikrokristallin verteilt, Kondensationsprodukte aus Dihalogenalkylen, wie z.B. Dibrombutan mit Bisdialkylaminen, wie z.B. Bis-Dimethylamino-1,3-propan, kationischer Guar-Gum, wie z.B. Jaguar® CBS, Jaguar® C-17, Jaguar® C-16 der Firma Celanese, quaternierte Ammoniumsalz-Polymere, wie z.B. Mirapol® A-15, Mirapol® AD-1, Mirapol® AZ-1 der Firma Miranol.

Als anionische, zwitterionische, amphotere und nichtionische Polymere kommen beispielsweise Vinylacetat/Crotonsäure-Copolymere, Vinylpyrrolidon/Vinylacrylat-Copolymere, Vinylacetat/Butylmaleat/Isobornylacrylat-Copolymere, Methylvinylether/Maleinsäureanhydrid-Copolymere und deren Ester, unvernetzte und mit Polyolen vernetzte Polyacrylsäuren, Acrylamidopropyltrimethylammoniumchlorid/Acrylat-Copolymere, Octylacrylamid/Methylmethacrylat/tertButylaminoethylmethacrylat/2-Hydroxypropylmethacrylat-Copolymere, Polyvinylpyrrolidon, Vinylpyrrolidon/Vinylacetat-Copolymere, Vinylpyrrolidon/Dimethylaminoethylmethacrylat/Vinylcaprolactam-Terpolymere sowie gegebenenfalls derivatisierte Celluloseether und Silicone in Frage. Weitere geeignete Polymere und Verdickungsmittel sind in **Cosm.Toil. 108, 95 (1993)** aufgeführt.

Siliconverbindungen

Geeignete Siliconverbindungen sind beispielsweise Dimethylpolysiloxane, Methylphenylpolysiloxane, cyclische Silicone sowie amino-, fettsäure-, alkohol-, polyether-, epoxy-, fluor-, glykosid- und/oder alkylmodifizierte Siliconverbindungen, die bei Raumtemperatur sowohl flüssig als auch harzförmig vorliegen können. Weiterhin geeignet sind Simethicone, bei denen es sich um Mischungen aus Dimethiconen mit einer durchschnittlichen Kettenlänge von 200 bis 300 Dimethylsiloxan-Einheiten und hydrierten Silicaten handelt. Eine detaillierte Übersicht über geeignete flüchtige Silicone findet sich zudem von Todd et al. in **Cosm.Toil. 91, 27 (1976)**.

### UV-Lichtschutzfaktoren

Als Sonnenschutzmittel bzw. UV-Lichtschutzfaktoren im Sinne der Erfindung werden Lichtschutzmittel bezeichnet, die für den Schutz der menschlichen Haut gegenüber schädigenden Einflüssen der direkten und indirekten Strahlung der Sonne nützlich sind. Die für die Hautbräunung verantwortliche Ultraviolettstrahlung der Sonne unterteilt man in die Abschnitte UV-C (Wellenlängen 200–280 nm), UV-B (280–315 nm) und UV-A (315–400 nm).

Die Pigmentierung normaler Haut unter dem Einfluss der Sonnenstrahlung, d. h. die Bildung von Melaninen, wird durch UV-B u. UV-A unterschiedlich bewirkt. Bestrahlung mit UV-A-Strahlen („langwelligem UV“) hat die Dunkelung der in der Epidermis bereits vorhandenen Melanin-Körper zur Folge, ohne dass schädigende Einflüsse zu erkennen sind. Anders bei dem sog. „kurzwelligem UV“ (UV-B). Dieses bewirkt die Entstehung von sog. Spätpigment durch Neubildung von Melanin-Körnern. Ehe jedoch das (schützende) Pigment gebildet ist, unterliegt die Haut der Einwirkung der ungefilterten Strahlung, die – je nach Expositionsdauer – zur Bildung von Hautrötungen (Erythemen), Hautentzündungen (Sonnenbrand) und gar Brandblasen führen kann.

Als UV-Absorber oder Lichtfilter, die also die UV-Strahlung in unschädliche Wärme umwandeln, werden die erfindungsgemäßen Extrakte des Pilzes *Grifola frondosa* eingesetzt, diese können zusätzlich in Kombination mit weiteren Sonnenschutzmitteln bzw. UV-Lichtschutzfaktoren vorliegen.

Diese weiteren UV- Lichtschutzfaktoren sind beispielsweise bei Raumtemperatur flüssig oder kristallin vorliegende organische Substanzen (Lichtschutzfilter), die in der Lage sind, ultraviolette Strahlen zu absorbieren und die aufgenommene Energie in Form längerwelliger Strahlung, z.B. Wärme wieder abzugeben. UVB-Filter können öllöslich oder wasserlöslich sein. Als öllösliche Substanzen sind z.B. zu nennen:

- 3-Benzylidencampher bzw. 3-Benzylidennorcampher und dessen Derivate, z.B. 3-(4-Methylbenzyliden)campher wie in der **EP 0693471 B1** beschrieben;
- 4-Aminobenzoessäurederivate, vorzugsweise 4-(Dimethylamino)benzoessäure-2-ethylhexylester, 4-(Dimethylamino)benzoessäure-2-octylester und 4-(Dimethylamino)benzoessäureamylester;
- Ester der Zimtsäure, vorzugsweise 4-Methoxyzimtsäure-2-ethylhexylester, 4-Methoxyzimtsäurepropylester, 4-Methoxyzimtsäureisoamylester 2-Cyano-3,3-phenylzimtsäure-2-ethylhexylester (Octocrylene);
- Ester der Salicylsäure, vorzugsweise Salicylsäure-2-ethylhexylester, Salicylsäure-4-isopropylbenzylester, Salicylsäurehomomenthylester;
- Derivate des Benzophenons, vorzugsweise 2-Hydroxy-4-methoxybenzophenon, 2-Hydroxy-4-methoxy-4'-methylbenzophenon, 2,2'-Dihydroxy-4-methoxybenzophenon;
- Ester der Benzalmonsäure, vorzugsweise 4-Methoxybenzmalonsäure-2-ethylhexylester;
- Triazinderivate, wie z.B. 2,4,6-Triänilino-(p-carbo-2'-ethyl-1'-hexyloxy)-1,3,5-triazin und Octyl Triazon, wie in der **EP 0818450 A1** beschrieben oder Dioctyl Butamido Triazone (Uvasorb® HEB);
- Propan-1,3-dione, wie z.B. 1-(4-tert-Butylphenyl)-3-(4'-methoxyphenyl)propan-1,3-dion;



- Ketotricyclo(5.2.1.0)decan-Derivate, wie in der **EP 0694521 B1** beschrieben.

Als wasserlösliche Substanzen kommen in Frage:

- 2-Phenylbenzimidazol-5-sulfonsäure und deren Alkali-, Erdalkali-, Ammonium-, Alkylammonium-, Alkanolammonium- und Glucammoniumsalze;
- Sulfonsäurederivate von Benzophenonen, vorzugsweise 2-Hydroxy-4-methoxybenzophenon-5-sulfonsäure und ihre Salze;
- Sulfonsäurederivate des 3-Benzylidencamphers, wie z.B. 4-(2-Oxo-3-bornylidenmethyl)benzolsulfonsäure und 2-Methyl-5-(2-oxo-3-bornyliden)sulfonsäure und deren Salze.

Als typische UVA-Filter kommen insbesondere Derivate des Benzoylmethans in Frage, wie beispielsweise 1-(4'-tert-Butylphenyl)-3-(4'-methoxyphenyl)propan-1,3-dion, 4-tert-Butyl-4'-methoxydibenzoylmethan (Parsol 1789), 1-Phenyl-3-(4'-isopropylphenyl)propan-1,3-dion sowie Enaminverbindungen, wie beispielsweise beschrieben in der **DE 19712033 A1** (BASF). Die UV-A und UV-B-Filter können selbstverständlich auch in Mischungen eingesetzt werden. Neben den genannten löslichen Stoffen kommen für diesen Zweck auch unlösliche Lichtschutzpigmente, nämlich feindisperse Metalloxide bzw. Salze in Frage. Beispiele für geeignete Metalloxide sind insbesondere Zinkoxid und Titandioxid und daneben Oxide des Eisens, Zirkoniums, Siliciums, Mangans, Aluminiums und Cers sowie deren Gemische. Als Salze können Silicate (Talk), Bariumsulfat oder Zinkstearat eingesetzt werden. Die Oxide und Salze werden in Form der Pigmente für hautpflegende und hautschützende Emulsionen verwendet. Die Partikel sollten dabei einen mittleren Durchmesser von weniger als 100 nm, vorzugsweise zwischen 5 und 50 nm und insbesondere zwischen 15 und 30 nm aufweisen. Sie können eine sphärische Form aufweisen, es können jedoch auch solche Partikel zum Einsatz kommen, die eine ellipsoide oder in sonstiger Weise von der sphärischen Gestalt abweichende Form besitzen. Die Pigmente können auch oberflächenbehandelt, d.h. hydrophilisiert oder hydrophobiert vorliegen. Typische Beispiele sind gecoatete Titandioxide, wie z.B. Titandioxid T 805 (Degussa) oder Eusolex® T2000 (Merck). Als hydrophobe Coatingmittel kommen dabei vor allem Silicone und dabei speziell Trialkoxyoctylsilane oder Dimethicone in Frage. In Sonnenschutzmitteln werden bevorzugt sogenannte Mikro- oder Nanopigmente eingesetzt. Vorzugsweise wird mikronisiertes Zinkoxid verwendet. Weitere geeignete UV-Lichtschutzfilter sind der Übersicht von P.Finkel in **SÖFW-Journal 122, 543 (1996)** sowie **Parfümerie und Kosmetik 3 (1999), Seite 11ff** zu entnehmen.

Die erfindungsgemäßen Extrakte können weiterhin in kosmetischen und/oder dermatologischen Pflegemitteln als Tyrosinaseinhibitoren und/oder als Hautweißungsmittel verwendet werden. Die auch als Skin-whitener bezeichneten Hautweißungsmittel führen zu einem helleren Aussehen der Haut. Eine Möglichkeit zur Hautaufhellung oder Hautweissung führt über die Inhibierung der Tyrosinase, denn die Tyrosinase ist an der Bildung des Hautpigments Melanin beteiligt (Depigmentierung). Der erfindungsgemäße Einsatz von Extrakten aus *Grifola frondosa* führt auf Grund der Inhibierung der Tyrosinase zu einer verminderten Bildung von Melanin und damit zu einer Hautweißung. Die Extrakte

aus *Grifola frondosa* können zusätzlich in Kombination mit weiteren Tyrosinaseinhibitoren als Depigmentierungsmittel wie beispielsweise Arbutin, Ferulasäure, Kojisäure, Cumarinsäure und Ascorbinsäure (Vitamin C) eingesetzt werden.

#### Antioxidantien

Neben primären Lichtschutzstoffen können auch sekundäre Lichtschutzmittel vom Typ der Antioxidantien eingesetzt werden, die die photochemische Reaktionskette unterbrechen, welche ausgelöst wird, wenn UV-Strahlung in die Haut eindringt. Typische Beispiele hierfür sind Aminosäuren (z.B. Glycin, Histidin, Tyrosin, Tryptophan) und deren Derivate, Imidazole (z.B. Urocaninsäure) und deren Derivate, Peptide wie D,L-Carnosin, D-Carnosin, L-Carnosin und deren Derivate (z.B. Anserin), Carotinoide, Carotine (z.B.  $\alpha$ -Carotin,  $\beta$ -Carotin, Lycopin) und deren Derivate, Chlorogensäure und deren Derivate, Liponsäure und deren Derivate (z.B. Dihydroliponsäure), Aurothioglucose, Propylthiouracil und andere Thiole (z.B. Thioredoxin, Glutathion, Cystein, Cystin, Cystamin und deren Glycosyl-, N-Acetyl-, Methyl-, Ethyl-, Propyl-, Amyl-, Butyl- und Lauryl-, Palmitoyl-, Oleyl-,  $\gamma$ -Linoleyl-, Cholesteryl- und Glycerylester) sowie deren Salze, Dilaurylthiodipropionat, Distearylthiodipropionat, Thiodipropionsäure und deren Derivate (Ester, Ether, Peptide, Lipide, Nukleotide, Nukleoside und Salze) sowie Sulfoximinverbindungen (z.B. Buthioninsulfoximine, Homocysteinsulfoximin, Butioninsulfone, Penta-, Hexa-, Heptathioninsulfoximin) in sehr geringen verträglichen Dosierungen (z.B. pmol bis  $\mu$ mol/kg), ferner (Metall)-Chelatoren (z.B.  $\alpha$ -Hydroxyfettsäuren, Palmitinsäure, Phytinsäure, Lactoferrin),  $\alpha$ -Hydroxysäuren (z.B. Citronensäure, Milchsäure, Äpfelsäure), Huminsäure, Gallensäure, Gallenextrakte, Bilirubin, Biliverdin, EDTA, EGTA und deren Derivate, ungesättigte Fettsäuren und deren Derivate (z.B.  $\gamma$ -Linolensäure, Linolsäure, Ölsäure), Folsäure und deren Derivate, Ubichinon und Ubichinol und deren Derivate, Vitamin C und Derivate (z.B. Ascorbylpalmitat, Mg-Ascorbylphosphat, Ascorbylacetat), Tocopherole und Derivate (z.B. Vitamin-E-acetat), Vitamin A und Derivate (Vitamin-A-palmitat) sowie Koniferylbenzoat des Benzoeharzes, Rutinsäure und deren Derivate,  $\alpha$ -Glycosylrutin, Ferulasäure, Furfurylidenglucitol, Carnosin, Butylhydroxytoluol, Butylhydroxyanisol, Nordihydroguajakharzsäure, Nordihydroguajaretsäure, Trihydroxybutyrophenon, Harnsäure und deren Derivate, Mannose und deren Derivate, Superoxid-Dismutase, Zink und dessen Derivate (z.B. ZnO, ZnSO<sub>4</sub>) Selen und dessen Derivate (z.B. Selen-Methionin), Stilbene und deren Derivate (z.B. Stilbenoxid, trans-Stilbenoxid) und die erfindungsgemäß geeigneten Derivate (Salze, Ester, Ether, Zucker, Nukleotide, Nukleoside, Peptide und Lipide) dieser genannten Wirkstoffe.

#### Biogene Wirkstoffe

Unter biogenen Wirkstoffen sind beispielsweise Tocopherol, Tocopherolacetat, Tocopherolpalmitat, Ascorbinsäure, (Desoxy)Ribonucleinsäure und deren Fragmentierungsprodukte, Retinol, Bisabolol, Allantoin, Phytantriol, Panthenol, AHA-Säuren, Aminosäuren, Ceramide, Pseudoceramide, essentielle Öle, Pflanzenextrakte und Vitaminkomplexe zu verstehen.

### Deodorantien und keimhemmende Mittel

Kosmetische Deodorantien (Desodorantien) wirken Körpergerüchen entgegen, überdecken oder beseitigen sie. Körpergerüche entstehen durch die Einwirkung von Hautbakterien auf apokrinen Schweiß, wobei unangenehm riechende Abbauprodukte gebildet werden. Dementsprechend enthalten Deodorantien Wirkstoffe, die als keimhemmende Mittel, Enzyminhibitoren, Geruchsabsorber oder Geruchsüberdecker fungieren. Als keimhemmende Mittel sind grundsätzlich alle gegen grampositive Bakterien wirksamen Stoffe geeignet, wie z. B. 4-Hydroxybenzoesäure und ihre Salze und Ester, N-(4-Chlorphenyl)-N'-(3,4 dichlorphenyl)harnstoff, 2,4,4'-Trichlor-2'-hydroxydiphenylether (Triclosan), 4-Chlor-3,5-dimethyl-phenol, 2,2'-Methylen-bis(6-brom-4-chlorphenol), 3-Methyl-4-(1-methylethyl)-phenol, 2-Benzyl-4-chlorphenol, 3-(4-Chlorphenoxy)-1,2-propandiol, 3-Iod-2-propinylbutylcarbamate, Chlorhexidin, 3,4,4'-Trichlorcarbanilid (TTC), antibakterielle Riechstoffe, Thymol, Thymianöl, Eugenol, Nelkenöl, Menthol, Minzöl, Farnesol, Phenoxyethanol, Glycerinmonocaprinat, Glycerinmonocaprylat, Glycerinmonolaurat (GML), Diglycerinmonocaprinat (DMC), Salicylsäure-N-alkylamide wie z. B. Salicylsäure-n-octylamid oder Salicylsäure-n-decylamid.

Als Enzyminhibitoren sind beispielsweise Esteraseinhibitoren geeignet. Hierbei handelt es sich vorzugsweise um Trialkylcitrate wie Trimethylcitrat, Tripropylcitrat, Triisopropylcitrat, Tributylcitrat und insbesondere Triethylcitrat (Hydagen® CAT). Die Stoffe inhibieren die Enzymaktivität und reduzieren dadurch die Geruchsbildung. Weitere Stoffe, die als Esteraseinhibitoren in Betracht kommen, sind Sterolsulfate oder -phosphate, wie beispielsweise Lanosterin-, Cholesterin-, Campesterin-, Stigmasterin- und Sitosterinsulfat bzw -phosphat, Dicarbonsäuren und deren Ester, wie beispielsweise Glutarsäure, Glutarsäuremonoethylester, Glutarsäurediethylester, Adipinsäure, Adipinsäuremonoethylester, Adipinsäurediethylester, Malonsäure und Malonsäurediethylester, Hydroxycarbonsäuren und deren Ester wie beispielsweise Citronensäure, Äpfelsäure, Weinsäure oder Weinsäurediethylester, sowie Zinkglycinat.

Als Geruchsabsorber eignen sich Stoffe, die geruchsbildende Verbindungen aufnehmen und weitgehend festhalten können. Sie senken den Partialdruck der einzelnen Komponenten und verringern so auch ihre Ausbreitungsgeschwindigkeit. Wichtig ist, daß dabei Parfums unbeeinträchtigt bleiben müssen. Geruchsabsorber haben keine Wirksamkeit gegen Bakterien. Sie enthalten beispielsweise als Hauptbestandteil ein komplexes Zinksalz der Ricinolsäure oder spezielle, weitgehend geruchsneutrale Duftstoffe, die dem Fachmann als "Fixateure" bekannt sind, wie z. B. Extrakte von Labdanum bzw. Styrax oder bestimmte Abietinsäurederivate. Als Geruchsüberdecker fungieren Riechstoffe oder Parfümöle, die zusätzlich zu ihrer Funktion als Geruchsüberdecker den Deodorantien ihre jeweilige Duftnote verleihen. Als Parfümöle seien beispielsweise genannt Gemische aus natürlichen und synthetischen Riechstoffen. Natürliche Riechstoffe sind Extrakte von Blüten, Stengeln und Blättern, Früchten, Fruchtschalen, Wurzeln, Hölzern, Kräutern und Gräsern, Nadeln und Zweigen sowie Harzen und Balsamen. Weiterhin kommen tierische Rohstoffe in Frage, wie beispielsweise Zibet und Castoreum. Typische synthetische Riechstoffverbindungen sind Produkte vom Typ der Ester, Ether, Aldehyde, Ketone, Alkohole und Kohlenwasserstoffe. Riechstoffverbindungen vom Typ der Ester sind z.B. Ben-



zylacetat, p-tert.-Butylcyclohexylacetat, Linalylacetat, Phenylethylacetat, Linalylbenzoat, Benzylformiat, Allylcyclohexylpropionat, Styrallylpropionat und Benzylsalicylat. Zu den Ethern zählen beispielsweise Benzylethylether, zu den Aldehyden z.B. die linearen Alkanale mit 8 bis 18 Kohlenstoffatomen, Citral, Citronellal, Citronellyloxyacetaldehyd, Cyclamenaldehyd, Hydroxycitronellal, Lilial und Bourgeonal, zu den Ketonen z.B. die Jonone und Methylcedrylketon, zu den Alkoholen Anethol, Citronellol, Eugenol, Isoeugenol, Geraniol, Linalool, Phenylethylalkohol und Terpeneol, zu den Kohlenwasserstoffen gehören hauptsächlich die Terpene und Balsame. Bevorzugt werden jedoch Mischungen verschiedener Riechstoffe verwendet, die gemeinsam eine ansprechende Duftnote erzeugen. Auch ätherische Öle geringerer Flüchtigkeit, die meist als Aromakomponenten verwendet werden, eignen sich als Parfümöle, z.B. Salbeiöl, Kamillenöl, Nelkenöl, Melissenöl, Minzenöl, Zimtblätteröl, Lindenblütenöl, Wacholderbeerenöl, Vetiveröl, Olibanöl, Galbanumöl, Labdanumöl und Lavandinöl. Vorzugsweise werden Bergamotteöl, Dihydromyrcenol, Lilial, Lyrall, Citronellol, Phenylethylalkohol,  $\alpha$ -Hexylzimtaldehyd, Geraniol, Benzylacetat, Cyclamenaldehyd, Linalool, Boisambrene Forte, Ambroxan, Indol, Hedione, Sandelice, Citronenöl, Mandarinenöl, Orangenöl, Allylamylglycolat, Cyclovertal, Lavandinöl, Muskateller Salbeiöl,  $\beta$ -Damascone, Geraniumöl Bourbon, Cyclohexylsalicylat, Vertofix Coeur, Iso-E-Super, Fixolide NP, Evernyl, Iraldein gamma, Phenyllessigsäure, Geranylacetat, Benzylacetat, Rosenoxid, Romilat, Irotyl und Floramat allein oder in Mischungen, eingesetzt.

Antitranspirantien (Antiperspirantien) reduzieren durch Beeinflussung der Aktivität der ekkrinen Schweißdrüsen die Schweißbildung, und wirken somit Achselnässe und Körpergeruch entgegen. Wässrige oder wasserfreie Formulierungen von Antitranspirantien enthalten typischerweise folgende Inhaltsstoffe:

- adstringierende Wirkstoffe,
- Ölkomponenten,
- nichtionische Emulgatoren,
- Coemulgatoren,
- Konsistenzgeber,
- Hilfsstoffe wie z. B. Verdicker oder Komplexmierungsmittel und/oder
- nichtwässrige Lösungsmittel wie z. B. Ethanol, Propylenglykol und/oder Glycerin.

Als adstringierende Antitranspirant-Wirkstoffe eignen sich vor allem Salze des Aluminiums, Zirkoniums oder des Zinks. Solche geeigneten antihydrotisch wirksamen Wirkstoffe sind z.B. Aluminiumchlorid, Aluminiumchlorhydrat, Aluminiumdichlorhydrat, Aluminiumsesquichlorhydrat und deren Komplexverbindungen z. B. mit Propylenglycol-1,2. Aluminiumhydroxyallantoinat, Aluminiumchloridtartrat, Aluminium-Zirkonium-Trichlorhydrat, Aluminium-Zirkonium-tetrachlorhydrat, Aluminium-Zirkonium-pentachlorhydrat und deren Komplexverbindungen z. B. mit Aminosäuren wie Glycin. Daneben können in Antitranspirantien übliche öllösliche und wasserlösliche Hilfsmittel in geringeren Mengen enthalten sein. Solche öllöslichen Hilfsmittel können z.B. sein:

- entzündungshemmende, hautschützende oder wohlriechende ätherische Öle,

- synthetische hautschützende Wirkstoffe und/oder
- öllösliche Parfümöle.

Übliche wasserlösliche Zusätze sind z.B. Konservierungsmittel, wasserlösliche Duftstoffe, pH-Wert-

Stellmittel, z.B. Puffergemische, wasserlösliche Verdickungsmittel, z.B. wasserlösliche natürliche oder synthetische Polymere wie z.B. Xanthan-Gum, Hydroxyethylcellulose, Polyvinylpyrrolidon oder hochmolekulare Polyethylenoxide.

#### Filmbildner

Gebräuchliche Filmbildner sind beispielsweise Chitosan, mikrokristallines Chitosan, quaterniertes Chitosan, Polyvinylpyrrolidon, Vinylpyrrolidon-Vinylacetat-Copolymerisate, Polymere der Acrylsäurereihe, quaternäre Cellulose-Derivate, Kollagen, Hyaluronsäure bzw. deren Salze und ähnliche Verbindungen.

#### Quellmittel

Als Quellmittel für wässrige Phasen können Montmorillonite, Clay Mineralstoffe, Pemulen sowie alkylmodifizierte Carbopoltypen (Goodrich) dienen. Weitere geeignete Polymere bzw. Quellmittel können der Übersicht von R.Lochhead in **Cosm.Toil.** 108, 95 (1993) entnommen werden.

#### Insekten-Repellentien

Als Insekten-Repellentien kommen N,N-Diethyl-m-toluamid, 1,2-Pentandiol oder Ethyl Butylacetylaminopropionate in Frage

#### Hydrotrope

Zur Verbesserung des Fließverhaltens können ferner Hydrotrope, wie beispielsweise Ethanol, Isopropylalkohol, oder Polyole eingesetzt werden. Polyole, die hier in Betracht kommen, besitzen vorzugsweise 2 bis 15 Kohlenstoffatome und mindestens zwei Hydroxylgruppen. Die Polyole können noch weitere funktionelle Gruppen, insbesondere Aminogruppen, enthalten bzw. mit Stickstoff modifiziert sein. Typische Beispiele sind

- Glycerin;
- Alkylenglycole, wie beispielsweise Ethylenglycol, Diethylenglycol, Propylenglycol, Butylenglycol, Hexylenglycol sowie Polyethylenglycole mit einem durchschnittlichen Molekulargewicht von 100 bis 1.000 Dalton;
- technische Oligoglyceringemische mit einem Eigenkondensationsgrad von 1,5 bis 10 wie etwa technische Diglyceringemische mit einem Diglyceringehalt von 40 bis 50 Gew.-%;
- Metholverbindungen, wie insbesondere Trimethylolethan, Trimethylolpropan, Trimethylolbutan, Pentaerythrit und Dipentaerythrit;
- Niedrigalkylglucoside, insbesondere solche mit 1 bis 8 Kohlenstoffen im Alkylrest, wie beispielsweise Methyl- und Butylglucosid;
- Zuckeralkohole mit 5 bis 12 Kohlenstoffatomen, wie beispielsweise Sorbit oder Mannit,



- Zucker mit 5 bis 12 Kohlenstoffatomen, wie beispielsweise Glucose oder Saccharose;
- Amino Zucker, wie beispielsweise Glucamin;
- Dialkoholamine, wie Diethanolamin oder 2-Amino-1,3-propandiol.

#### Konservierungsmittel

Als Konservierungsmittel eignen sich beispielsweise Phenoxyethanol, Formaldehydlösung, Parabene, Pentandiol oder Sorbinsäure sowie die in Anlage 6, Teil A und B der Kosmetikverordnung aufgeführten weiteren Stoffklassen.

#### Parfümöle

Als Parfümöle seien genannt Gemische aus natürlichen und synthetischen Riechstoffen. Natürliche Riechstoffe sind Extrakte von Blüten (Lilie, Lavendel, Rosen, Jasmin, Neroli, Ylang-Ylang), Stengeln und Blättern (Geranium, Patchouli, Petitgrain), Früchten (Anis, Koriander, Kümmel, Wacholder), Fruchtschalen (Bergamotte, Zitrone, Orangen), Wurzeln (Macis, Angelica, Sellerie, Kardamon, Costus, Iris, Calmus), Hölzern (Pinien-, Sandel-, Guajak-, Zedern-, Rosenholz), Kräutern und Gräsern (Estragon, Lemongras, Salbei, Thymian), Nadeln und Zweigen (Fichte, Tanne, Kiefer, Latschen), Harzen und Balsamen (Galbanum, Elemi, Benzoe, Myrrhe, Olibanum, Opoponax). Weiterhin kommen tierische Rohstoffe in Frage, wie beispielsweise Zibet und Castoreum. Typische synthetische Riechstoffverbindungen sind Produkte vom Typ der Ester, Ether, Aldehyde, Ketone, Alkohole und Kohlenwasserstoffe. Riechstoffverbindungen vom Typ der Ester sind z.B. Benzylacetat, Phenoxyethylisobutytrat, p-tert.-Butylcyclohexylacetat, Linalylacetat, Dimethylbenzylcarbinylacetat, Phenylethylacetat, Linalylbenzoat, Benzylformiat, Ethylmethylphenylglycinat, Allylcyclohexylpropionat, Styrallylpropionat und Benzylsalicylat. Zu den Ethern zählen beispielsweise Benzylethylether, zu den Aldehyden z.B. die linearen Alkanale mit 8 bis 18 Kohlenstoffatomen, Citral, Citronellal, Citronellyloxyacetaldehyd, Cyclamenaldehyd, Hydroxycitronellal, Lilial und Bourgeonal, zu den Ketonen z.B. die Jonone,  $\alpha$ -Isomethylionon und Methylcedrylketon, zu den Alkoholen Anethol, Citronellol, Eugenol, Isoeugenol, Geraniol, Linalool, Phenylethylalkohol und Terpeneol, zu den Kohlenwasserstoffen gehören hauptsächlich die Terpene und Balsame. Bevorzugt werden jedoch Mischungen verschiedener Riechstoffe verwendet, die gemeinsam eine ansprechende Duftnote erzeugen. Auch ätherische Öle geringerer Flüchtigkeit, die meist als Aromakomponenten verwendet werden, eignen sich als Parfümöle, z.B. Salbeiöl, Kamillenöl, Nelkenöl, Melissenöl, Minzenöl, Zimtblätteröl, Lindenblütenöl, Wacholderbeerenöl, Vetiveröl, Olibanöl, Galbanumöl, Labolanumöl und Lavandinöl. Vorzugsweise werden Bergamotteöl, Dihydromyrcenol, Lilial, Lyrall, Citronellol, Phenylethylalkohol,  $\alpha$ -Hexylzimaldehyd, Geraniol, Benzylacetat, Cyclamenaldehyd, Linalool, Boisambrene Forte, Ambroxan, Indol, Hedione, Sandelice, Citronenöl, Mandarinöl, Orangenöl, Allylmyllyglycolat, Cyclovertal, Lavandinöl, Muskateller Salbeiöl,  $\beta$ -Damascone, Geraniumöl Bourbon, Cyclohexylsalicylat, Vertofix Coeur, Iso-E-Super, Fixolide NP, Evernyl, Iraldein gamma, Phenyllessigsäure, Geranylacetat, Benzylacetat, Rosenoxid, Romillat, Irotyl und Floramat allein oder in Mischungen, eingesetzt.

Farbstoffe

Als Farbstoffe können die für kosmetische Zwecke geeigneten und zugelassenen Substanzen verwendet werden, wie sie beispielsweise in der Publikation **"Kosmetische Färbemittel" der Farbstoffkommission der Deutschen Forschungsgemeinschaft, Verlag Chemie, Weinheim, 1984, S.81-106** zusammengestellt sind. Diese Farbstoffe werden üblicherweise in Konzentrationen von 0,001 bis 0,1 Gew.-%, bezogen auf die gesamte Mischung, eingesetzt.

## Beispiele

### 1. Beispiel: Extraktion der Pilze mit wässrigem Ethanol

Zu 225 l destilliertem Wasser mit einer Temperatur von 80 °C wurden 150 g der Hefe *Saccharomyces cerevisia* gegeben und zunächst homogenisiert. Der Aufguss wurde unter Rühren auf 120 °C erhitzt und für 30 min. extrahiert. Der Extrakt wurde anschließend 15 min bei einer Geschwindigkeit von 5000 g zentrifugiert. Die überstehende Flüssigkeit wurde durch Eindampfen aufkonzentriert. Anschließend wurde der Extrakt bei 115 °C für 20 min. sterilisiert, zentrifugiert und nochmals auf 110 °C erhitzt bevor er filtriert wurde. Der Rückstand wurde spraygetrocknet. Die Ausbeute an Trockenprodukt betrug zwischen 5 und 20 Gew.-% bezogen auf das Trockengewicht an eingesetzten Pilzen.

### 2. Beispiel: Nachweis der Stimulierung der Synthese von dermalen Makromolekülen

Hintergrund: Das Ziel dieser Untersuchungen ist der Nachweis einer stimulierenden Aktivität von Extrakten aus *Saccharomyces cerevisiae* auf die Synthese von dermalen Makromolekülen an humanen Fibroblastenkulturen in vitro.

Die Dermis ist aufgebaut aus Zellen (Fibroblasten und Mastzellen), Gewebebestandteilen (Collagen und Elastin) und aus sogenannten Grundsubstanzen. Zu diesen Grundsubstanzen zählen beispielsweise Glykosaminoglykane (GAG) wie, Hyaluronsäure, Chondroitinsulfat, Dermatansulfat und Glycoproteine. Durch die Hautalterung vermindert sich die intermolekulare Verfestigung und Elastizität der Dermis und dadurch die Straffheit der Haut. Ebenso wird die Zahl der vorhandenen Hautzellen, insbesondere der Fibroblasten im Laufe der Hautalterung reduziert. Die Collagenfasern werden im Laufe der Zeit fragmentiert und es erhöht sich der Anteil von unlöslichen zu löslichen Collagen. Die feinen dermalen elastischen Fasern vergrößern sich und werden zerstört. Die Synthese von GAG (Glycosaminoglycan) ist vermindert. All diese Prozesse tragen zur Hautalterung und deren Erscheinungsformen wie Falten und mangelnde Straffheit der Haut bei.

Mit folgenden Modellen kann die Stimulierung der Synthese der dermalen Makromoleküle nachgewiesen werden und damit eine Aktivsubstanz identifiziert werden, die gegen Hautalterung wirken kann, also als anti-aging Mittel wirken kann.

Methode: Die Stimulierung der Synthese von dermalen Makromolekülen wurde durch ein Verfahren mit zwei unterschiedlichen Messmethoden nachgewiesen.

Die erste Messmethode basiert auf eine Anfärbung von Makromolekülen in einer Kultur humaner Fibroblasten, die mit Collagen Typ I ein Collagen-Gel oder Collagen Gitterfasern bzw. eine Matrix aufbaut. Bestimmte Regionen dieser Fasern wurden mit Hilfe von Anfärbereagenzien auf den Anteil an den genannten Makromolekülen quantifiziert.

Bei der zweiten Methode wurde durch Reaktionen der Makromoleküle mit Antikörpern reaktive Strukturen und eine spezifische Charakterisierung der Matrix aus Fibroblasten und Collagen –Gel untersucht. Verwendet wurden folgende Antikörper:

- Anti-Chondroitinsulfat
- Anti-Keratinsulfat
- Anti-Elastin
- Anti-Collagen Typ III

Für beide Messmethoden vermischte man eine Suspension humaner Fibroblasten mit einer Lösung von Collagen Typ I (1-2 mg/ml). Diese Mischung wurde in einem definiertem Nährmedium (DMEM = Dulbecco Minimum Essential Medium, Firma Life Technologie Sarl) mit 0,5- oder 2 Gew.-% fötalem Kälberserum (FCS) bei 37 °C in einer 5 %igen CO<sub>2</sub>-Atmosphäre in Petri-Schalen (5 ml pro Schale) unter Zusatz verschiedener Konzentrationen des zu untersuchenden Mittels über 7 Tage inkubiert.

Das zu untersuchende Mittel enthielt folgende Zusammensetzung:

- Extrakt aus *Saccharomyces cerevisiae*: 1 bis 5 %
- Mannitol: > 50 %
- Cyclodextrin: 5 bis 10 %
- Dinatriumsalz der Bernsteinsäure: 0,1 bis 1 %

und ist unter der Marke und dem Namen Cytovitin® von Laboratoires Sérobiologique im Handel erhältlich.

Nach sieben Tagen Inkubationszeit wurden Biopsien (Gewebeproben) genommen und histologische Schnitte des Collagen-Gels mit humanen Fibroblasten erhalten. Nach der ersten Messmethode wurde die Synthese von Makromolekülen quantifiziert durch die Anfärbung von Glycosaminoglycan mit PAS-Alcian blau z.B. von der Firma SIGMA nach der Periodic-Acid-Schiff-Methode (PAS), beschrieben in: Mowry RW, Anal. NY Adad. Sci. 106 Art 2, 402, 1963. Die Beurteilung der Stimulierung der Synthese von Makromolekülen wurde direkt in der Umgebung von Fibroblasten durchgeführt. Diese Zone wird auch als „Perifibroblasten Fläche“ bezeichnet.

Die Kinetik der Collagen-Gel Konzentration in der Messmethode 1 wurde durch Messung von drei perpendicularen Durchmessern an jedem Collagen-Gel mit einem Mikroskop mit Bildanalysesystem bestimmt. Nach 7-tägiger Inkubation wurde die Dichte des Collagen-Gels durch eine Bildanalyse mit einer Lichtquelle aus sichtbarem Licht bestimmt indem unterschiedliche Graustufen vergleichend untersucht wurden. Es handelt sich um eine relative Bestimmung der Dichte (0=klar oder weiss und 1=schwarz), die mit keiner Einheit versehen werden kann.

Eine Quantifizierung der „Perifibroblasten“ Sekretion wurde durch ein Image-Analysator mittels eines Mikroskops durchgeführt. Detektiert wurden reaktive Strukturen in der „Perifibroblasten-Fläche“ und die unterschiedlichen Graustufen vergleichend bestimmt.

Die immunohistochemischen Reaktionen mit den unterschiedlichen Antikörpern wurden mit einem konvokalem Laser-scanning-Mikroskop der Firma Zeiss untersucht. Die aus der konvokalen Laser-scanning Mikroskopie erhaltenen Bilder wurden mit Hilfe einer Standard-software (Quantimet Q500 der Firma Leica) konvertiert. Der prozentuale Anteil an markierten Makromolekülen bezogen auf die gesamte Fläche der untersuchten Probe wurde bestimmt.

Diese beiden Parameter sind direkt proportional zur Intensität der Synthese von Makromolekülen und damit zum GAG-Anteil (speziell zum Anteil an Chondroitinsulfat), zum Anteil an Collagen Typ III und zum Anteil an Elastin der Fibroblasten. In der folgenden Tabelle sind die Ergebnisse der Werte dieser Parameter dargestellt und direkt als repräsentative Werte für die Syntheseaktivität der Fibroblasten zu sehen. In der Tabelle sind die Werte aus der Summe dieser beiden Parameter als „Synthese-Faktor von Fibroblasten“ wiedergegeben und verglichen.

	Elastin	Collagen Typ III	Chondroitinsulfat
2 % FCS	23 ± 4	1914 ± 323	3018 ± 573
2 % FCS + 0,01 % Cytovitin®	1 ± 0,4	2649 ± 413	1411 ± 240
2 % FCS + 0,02 % Cytovitin®	167 ± 44	8431 ± 566	4646 ± 440
2 % FCS + 0,05 % Cytovitin®	43 ± 11	6189 ± 453	3654 ± 413

**Tabelle 1:** „Synthese-Faktor von Fibroblasten“: direkt proportional zum Gehalt an Makromolekülen in Gewebeproben humaner Fibroblasten mit Collagen nach der Behandlung mit Cytovotin®

Aus den Ergebnissen der Bestimmung des Glykosaminoglykan-Anteils in Gewebeproben von Collagen-Gel mit Fibroblasten speziell in der „perifibroblasten Fläche“ und nach der Auswertung der charakteristischen Antikörperreaktionen mit Anti-Chondroitin, Anti-Elastin und Anti-Collagen Typ III lässt sich eine signifikante Erhöhung des Anteils an Makromolekülen nach sieben-tägiger Inkubationszeit mit unterschiedlichen Konzentrationen an Cytovitin® im Vergleich zur Inkubation mit reinem Fötalem Kälber Serum (FCS) in einer Konzentration von 2 Gew.-% erkennen. Diese Werte belegen, dass eine Zusammensetzung enthaltend Extrakte aus *Saccharomyces cerevisiae* die Synthese von Glycosaminoglycan (GAG) in Fibroblasten stimuliert.

Diese Ergebnisse belegen weiterhin, dass die Extrakte aus *Saccharomyces cerevisiae* eine hohe Kapazität zeigen um den Metabolismus von Fibroblasten anzuregen.

### 3. Beispielrezepturen kosmetischer Mittel mit Cytovitin®

Die Zubereitung enthaltend Extrakt aus *Saccharomyces cerevisiae* die unter dem Namen Cytovitin® im Handel erhältlich ist, wurden in den folgenden erfindungsgemäßen Rezepturen K1 bis K21 sowie 1 bis 13 eingesetzt. Die so hergestellten kosmetischen Mittel zeigten gegenüber den Vergleichsrezepturen V1, V2 und V3 sehr gute hautpflegende Eigenschaften bei gleichzeitig guter Hautverträglichkeit. Darüber hinaus sind die erfindungsgemäßen Mittel stabil gegen oxidative Zersetzung.



**Tabelle 2: Softcreme Rezepturen K1 bis K7**

(Alle Angaben in Gew.-% bez. auf das kosmetische Mitteln)

INCI Bezeichnung	K1	K2	K3	K4	K5	K6	K7	V1
Glyceryl Stearate (and) Ceteareth-12/20 (and) Cetearyl Alcohol (and) Cetyl Palmitate	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0
Cetearyl Alcohol	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
Dicaprylyl Ether	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
Cocoglycerides	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0
Cetearyl Isononanoate	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0
Glycerin (86 Gew.-%ig)	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0
Cytovitin ®	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	-
Tocopherol		0,5						
Allantoin			0,2					
Bisabolol				0,5				
Chitosan (Hydagen CMF)					10,0			
Desoxyribonucleinsäure <sup>1)</sup>						0,5		
Panthenol							0,5	
Wasser				Ad 100				

**Tabelle 3: Nachtcremerezepaturen K8 bis K14**

(Alle Angaben in Gew.-% bez. auf das kosmetische Mitteln)

INCI Bezeichnung	K8	K9	K10	K11	K12	K13	K14	V2
Polyglyceryl-2 Dipolyhydroxystearate	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	5,0
Polyglyceryl-3 Diisostearate	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
Cera Alba	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
Zinc Stearate	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
Cocoglycerides	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0
Cetearyl Isononanoate	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0
Dicaprylyl Ether	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0
Magnesiumsulfate	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Glycerin (86 Gew.-%ig)	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0
Cytovitin ®	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	-
Tocopherol		0,5						
Allantoin			0,2					
Bisabolol				0,5				
Chitosan (Hydagen CMF)					10,0			
Desoxyribonucleinsäure <sup>1)</sup>						0,5		
Panthenol							0,5	
Wasser				Ad 100				

**Tabelle 4: W/O Bodylotion Rezepturen K15 bis K21**

(Alle Angaben in Gew.-% bez. auf das kosmetische Mitteln)

INCI-Bezeichnung	K15	K16	K17	K18	K19	K20	K21	V3
PEG-7 Hydrogenated Castor Oil	7,0	7,0	7,0	7,0	7,0	7,0	7,0	7,0
Decyl Oleate	7,0	7,0	7,0	7,0	7,0	7,0	7,0	7,0
Cetearyl Isononanoate	7,0	7,0	7,0	7,0	7,0	7,0	7,0	7,0
Glycerin (86 Gew.-%ig)	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0
MgSO <sub>4</sub> · 7 H <sub>2</sub> O	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Cytovitin ®	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	-
Tocopherol		0,5						
Allantoin			0,2					
Bisabolol				0,5				
Chitosan (Hydagen CMF)					10,0			
Desoxyribonucleinsäure <sup>1)</sup>						0,5		
Panthenol							0,5	
Wasser				Ad 100				

<sup>1)</sup> Desoxyribonucleinsäure: Molekulargewicht ca. 70000, Reinheit (bestimmt durch spektro-photometrische Messung der Absorption bei 260 nm sowie 280 nm): mindestens 1,7.

**Patentansprüche**

1. Verfahren zum Schutz der menschlichen Haut gegen die Alterung, dadurch gekennzeichnet, dass ein Mittel, enthaltend einen Extrakt aus *Saccharomyces cerevisiae*, welches die Synthese von dermalen Makromolekülen stimuliert topisch angewendet wird.
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass es sich bei dem Extrakt aus *Saccharomyces cerevisiae* um das getrocknete Produkt des wässrigen Extraktes handelt.
3. Verfahren nach Anspruch 1 und/oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass das Mittel zwischen 0,001 und 25 Gew.-% Extrakt aus *Saccharomyces cerevisiae* enthält.
4. Verfahren nach einem der vorherigen Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass das Mittel weiterhin Mannitol, und/oder Cyclodextrin und/oder Salze der Bernsteinsäure, insbesondere das Dinatriumsalz der Bernsteinsäure enthält.
5. Verfahren nach einem der vorherigen Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass es sich bei den dermalen Makromolekülen um Substanzen handelt, die ausgewählt sind aus der Gruppe, die gebildet wird von Glykosaminoglykanen, Elastin, Collagen, insbesondere Collagen Typ III, Fibronectin und Proteoglycanen und deren Salze.
6. Verfahren nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, dass die Glykosaminoglykane ausgewählt sind aus der Gruppe, die gebildet wird von Chondroitinsulfat, Keratansulfat, Dermatansulfat und Hyaluronsäure.
7. Verwendung von Extrakten aus *Saccharomyces cerevisiae* in Mitteln zur Stimulierung der Synthese von dermalen Makromolekülen.
8. Verwendung nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, dass es sich bei dem Extrakt aus *Saccharomyces cerevisiae* um das getrocknete Produkt des wässrigen Extraktes handelt.
9. Verwendung nach einem der Ansprüche 7 und/oder 8, dadurch gekennzeichnet, dass das Mittel zwischen 0,001 und 25 Gew.-% Extrakt aus *Saccharomyces cerevisiae* enthält.
10. Verwendung nach Anspruch 7 bis 9, dadurch gekennzeichnet, dass das Mittel weiterhin Mannitol, und/oder Cyclodextrin und/oder Salze der Bernsteinsäure, insbesondere das Dinatriumsalz der Bernsteinsäure enthält.
11. Verwendung nach einem der Ansprüche 7 bis 10, dadurch gekennzeichnet, dass es sich bei den dermalen Makromolekülen um Substanzen handelt, die ausgewählt sind aus der Gruppe, die gebildet wird von Glykosaminoglykanen, Elastin, Collagen, insbesondere Collagen Typ III, Fibronectin und Proteoglycanen und deren Salze .
12. Verwendung nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, dass die Glykosaminoglykane ausgewählt sind aus der Gruppe, die gebildet wird von Chondroitinsulfat, Keratansulfat, Dermatansulfat und Hyaluronsäure.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 01/07429

**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER**  
IPC 7 A61K7/48

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

**B. FIELDS SEARCHED**

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

CHEM ABS Data, EPO-Internal

**C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	FR 2 696 932 A (SEDERMA SA) 22 April 1994 (1994-04-22) claims 1,5; examples 3,5 ---	1
X	J-M SEIGNEURET ET AL.: "Biopolisaccaride stimolante e protettivo per la cute. Valutazione della sua efficacia" COSMETIC TECHNOLOGY, vol. 2, no. 4, 1999, pages 33-40, XP000981843 (Milano) page 39 ---	1
X	US 5 019 391 A (T. BUNTE ET AL.) 28 May 1991 (1991-05-28) the whole document --- -/--	1

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.☒ Patent family members are listed in annex.

## \* Special categories of cited documents:

- \*A\* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- \*E\* earlier document but published on or after the international filing date
- \*L\* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- \*O\* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- \*P\* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- \*T\* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- \*X\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- \*Y\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- \*&\* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

9 November 2001

Date of mailing of the international search report

23/11/2001

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Glikman, J-F



## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 01/07429

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	DATABASE CHEMICAL ABSTRACTS 'Online! STN; abrégé: 122: 16 864, XP002160451 abstract & JP 06 256155 A (KANEBO LTD) 13 September 1994 (1994-09-13) ---	1
A	FR 2 324 293 A (ORLANE) 15 April 1977 (1977-04-15) the whole document ---	1
A	D. IHLBROCK: "Zur kosmetischen Wirkung eines Extraktes aus der Hefe Saccharomyces cerevisiae" SÖFW-JOURNAL, vol. 123, no. 5, 1997, pages 318-325, XP000979043 the whole document ---	1
A	F. ZÜLLI ET AL.: "CM-Glucan: a biological response modifier from Baker's yeast for skin care" SÖFW-JOURNAL, vol. 123, no. 8, 1997, pages 535-541, XP000979044 the whole document ---	1
A	H. EGGENSPERGER ET AL.: "Multiaktiv wirksame Polysaccharide Teil 1- Pilzextrakte" SÖFW-JOURNAL, vol. 123, no. 8, 1997, pages 542-546, XP000979045 the whole document -----	1

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 01/07429

Patent document cited in search report		Publication date		Patent family member(s)	Publication date
FR 2696932	A	22-04-1994	FR	2696932 A1	22-04-1994
US 5019391	A	28-05-1991	DE	3721190 C1	02-02-1989
			AT	94055 T	15-09-1993
			CA	1327940 A1	22-03-1994
			DE	3883871 D1	14-10-1993
			EP	0297457 A2	04-01-1989
			JP	1063505 A	09-03-1989
JP 06256155	A	13-09-1994	JP	3119961 B2	25-12-2000
FR 2324293	A	15-04-1977	FR	2324293 A1	15-04-1977
			BE	841216 A1	28-10-1976
			DE	2617919 A1	11-11-1976
			ES	447476 A1	16-07-1978
			JP	51139636 A	02-12-1976

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES  
IPK 7 A61K7/48

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

## B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 A61K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

CHEM ABS Data, EPO-Internal

## C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	FR 2 696 932 A (SEDERMA SA) 22. April 1994 (1994-04-22) Ansprüche 1,5; Beispiele 3,5	1
X	J-M SEIGNEURET ET AL.: "Biopolisaccaride stimolante e protettivo per la cute. Valutazione della sua efficacia". COSMETIC TECHNOLOGY, Bd. 2, Nr. 4, 1999, Seiten 33-40, XP000981843 (Milano) Seite 39	1
X	US 5 019 391 A (T. BUNTE ET AL.) 28. Mai 1991 (1991-05-28) das ganze Dokument	1
	-/-	

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen☒ Siehe Anhang Patentfamilie

\* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

\*A\* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

\*E\* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

\*L\* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

\*O\* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

\*P\* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

\*T\* Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

\*X\* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

\*Y\* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

\*&amp;\* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

9. November 2001

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

23/11/2001

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde  
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Glikman, J-F

## C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie°	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	DATABASE CHEMICAL ABSTRACTS 'Online! STN; abrégé: 122: 16 864, XP002160451 Zusammenfassung & JP 06 256155 A (KANEBO LTD) 13. September 1994 (1994-09-13) ---	1
A	FR 2 324 293 A (ORLANE) 15. April 1977 (1977-04-15) das ganze Dokument ---	1
A	D. IHLBROCK: "Zur kosmetischen Wirkung eines Extraktes aus der Hefe Saccharomyces cerevisiae" SÖFW-JOURNAL, Bd. 123, Nr. 5, 1997, Seiten 318-325, XP000979043 das ganze Dokument ---	1
A	F. ZÜLLI ET AL.: "CM-Glucan: a biological response modifier from Baker's yeast for skin care" SÖFW-JOURNAL, Bd. 123, Nr. 8, 1997, Seiten 535-541, XP000979044 das ganze Dokument ---	1
A	H. EGGENSBERGER ET AL.: "Multiaktiv wirksame Polysaccharide Teil 1- Pilzextrakte" SÖFW-JOURNAL, Bd. 123, Nr. 8, 1997, Seiten 542-546, XP000979045 das ganze Dokument -----	1



# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 01/07429

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
FR 2696932	A	22-04-1994	FR	2696932 A1	22-04-1994
US 5019391	A	28-05-1991	DE	3721190 C1	02-02-1989
			AT	94055 T	15-09-1993
			CA	1327940 A1	22-03-1994
			DE	3883871 D1	14-10-1993
			EP	0297457 A2	04-01-1989
			JP	1063505 A	09-03-1989
JP 06256155	A	13-09-1994	JP	3119961 B2	25-12-2000
FR 2324293	A	15-04-1977	FR	2324293 A1	15-04-1977
			BE	841216 A1	28-10-1976
			DE	2617919 A1	11-11-1976
			ES	447476 A1	16-07-1978
			JP	51139636 A	02-12-1976